Deutsche Forschung

Aus der Arbeit der Notgemeinschaft der Deutschen Wissenschaft

(Deutsche Forschungsgemeinschaft)

Heft 8



Untersuchungen über den Stoffwechsel der Pflanzen

Verlag der Notgemeinschaft der Deutschen Wissenschaft

Für den Buchhandel durch Karl Siegismund Verlag Berlin

1929

Herrosé & Ziemsen GmbH., Wittenberg (Bez. Halle)

In diesem Heft wird über die Anfänge einer von der Notgemeinschaft der Deutschen Wissenschaft angeregten und unterstützten Gemeinschaftsarbeit berichtet, welche die Vertiefung unserer Kenntnisse von der **Pflanzenernährung** zum Ziele hat. Da der Beginn der Fühlungnahme der Forscher, welche in dieser Richtung zusammenarbeiten wollen, noch nicht lange zurückliegt, ist das große Arbeitsfeld vorläufig nur teilweise beackert. Mehrfache Besprechungen haben aber einen engen Zusammenschluß der beteiligten Forscher vorbereitet. Es ist beabsichtigt, in Zukunft möglichst über alle Arbeiten aus dem Gebiete des pflanzlichen Stoffwechsels, welche von der Notgemeinschaft unterstützt werden, fortlaufend zu berichten. Es soll dabei so vorgegangen werden, daß bestimmte Teilgebiete, z. B. Kohlensäureassimilation, Wasserversorgung, Eiweißstoffwechsel, Nährsalzbedarf, deren rein wissenschaftliche Förderung offensichtlich von großer Bedeutung für die praktische Ernährungslehre der Pflanzen ist, monographisch behandelt werden. Einer kurzen Schilderung der gegenwärtigen theoretischen und praktischen Lage der Probleme hätten die erzielten Fortschritte und schließlich Ausblicke auf spätere Untersuchungen und, wenn möglich, auf anschließende praktische Fragen zu folgen.

Schnelle Erfolge in der Landwirtschaft, Forstwirtschaft und Gärtnerei sind nicht zu erwarten. Es kann zunächst nur Vorarbeit gegeben werden, wobei gehofft werden darf, daß sich die Verwertbarkeit in einiger Zeit von selbst einstellen wird. Die chemische Industrie und die Elektrotechnik bauen sich ja auch auf rein wissenschaftlicher Grundlage auf. In der angewandten Pflanzenphysiologie muß freilich die Umwälzung weit mehr Zeit brauchen; doch darf nicht vergessen werden, daß auch hier die rein wissenschaftliche Forschung Vorbedingung für die Intensivierung der Wirtschaft war.

Im folgenden berichtet W. Ruhland über die Stoffwechselvorgänge in der Pflanze, welche durch Untersuchungen seiner Schule eine

grundlegende Klärung erfahren haben, sowie über die Beeinflussung der Gestalt einer sehr geeigneten Versuchspflanze durch die Außenumstände. Mothes gelang es, die Rolle der Alkaloide, welche die größte Zahl der Heilstoffe liefern, im Stoffwechsel der erzeugenden Pflanze zu klären. Noack schildert die Untersuchungen, welche ihn tief in das Verständnis der Kohlensäureassimilation und der Chlorophyllfarbstoffe eingeführt haben. Dabei erfährt auch die praktisch wichtige Frage der Rauchgasschäden eine wesentliche Förderung. Pringsheim geht darauf aus, die theoretischen Fragen der Saatgutbeizung zu erforschen. Auch ist es ihm an einer größeren Anzahl von Samenarten gelungen, sie vollkommen von anhaftenden Mikroorganismen zu befreien, wodurch die Möglichkeit gewonnen wird, einige sonst unlösbare stoffwechselphysiologische Probleme anzugreifen.

Alle diese Untersuchungen konnten nur mit Hilfe der Mittel durchgeführt werden, welche das Reich durch die Notgemeinschaft zur Verfügung gestellt hat. Es soll durch passende Auswahl der zu bearbeitenden Aufgaben dafür gesorgt werden, daß diese Unterstützung unserer Volkswirtschaft einen möglichst großen Nutzen bringt.

W. Benecke

Inhalt

Einleitung

Auf die Anregung der Notgemeinschaft der Deutschen Wissenschaft hin sollen von Zeit zu Zeit in der „Deutschen Forschung" die Ergebnisse von Untersuchungen über die Ernährungsphysiologie der Pflanzen, welche mit Unterstützung der Notgemeinschaft ausgeführt worden sind, dargestellt und auf diese Weise einem weiteren Kreise naturwissenschaftlich interessierter Leser zugänglich gemacht werden. Dabei gilt es in erster Linie über solche Arbeiten aus dem genannten Wissensgebiete zu berichten, welche zu einem — naturgemäß nur vorläufigen — Abschluß gebracht, zum überwiegenden Teil bereits in botanischen Zeitschriften veröffentlicht und so der Kritik der engeren Fachgenossen unterbreitet worden sind. Der ersten Reihe von Aufsätzen, welche hier zum Abdruck gelangen und denen weitere folgen werden, sollen einige einführende Worte, welche Zweck und Ziel dieser Arbeiten erläutern, vorangeschickt werden.

Blicken wir auf das wissenschaftliche Arbeitsfeld der Forscher, welche die pflanzliche Ernährungsphysiologie zum Gegenstande ihrer Untersuchungen machen, so sehen wir, ähnlich wie in anderen naturwissenschaftlichen Fächern und in der Mathematik, zwei durch gleitende, nicht immer deutlich erkennbare Grenzen voneinander getrennte Schwesterdisziplinen, die man gemeiniglich als die reine und die angewandte Ernährungsphysiologie zu unterscheiden pflegt, in steter Wechselwirkung miteinander nach wissenschaftlicher Erkenntnis ringen. Diese Wechselwirkung zeigt sich in der Ernährungsphysiologie der Pflanzen schon seit geraumer Zeit. Es ist bekannt, daß die reine Experimentalphysiologie der Pflanzen, seitdem sie durch J. v. Sachs (1832—1897) von den anderen botanischen Disziplinen als selbständiger Zweig bald nach der Mitte des vorigen Jahrhunderts losgelöst worden ist, die verschiedensten Gebiete der angewandten Pflanzenkunde im reichsten Maße befruchtet hat, aber nicht minder sei daran erinnert, daß Liebig (1803—1873) und Boussingault (1802—1887), die wir als glänzende Vertreter eines Zweiges der

angewandten, nämlich der landwirtschaftlichen Botanik feiern, Tatsachen über den Pflanzenstoffwechsel zutage gefördert haben, die bis in alle Zukunft nachhaltig in der reinen Ernährungslehre fortwirken werden. Und auch heute noch, da mit der immer weiter getriebenen Spezialisierung auf allen Wissensgebieten die reine und die angewandte Ernährungsphysiologie der Pflanzen sich deutlicher, als es vordem wohl der Fall war, voneinander gesondert haben, und die angewandte Pflanzenkunde ihrerseits sich in immer mehr Zweige teilt, deren fast jeder über eigene, nur ihm dienstbare Forschungsstätten verfügt, sind es immer noch gewisse zentrale Stoffwechselprobleme, die das Interesse der reinen und der angewandten Ernährungslehre gleich stark fesseln, so die Lehre vom Eiweißstoffwechsel, von der Kohlensäureassimilation, vom Wasserhaushalte der Gewächse, um gleich hier Gebiete namhaft zu machen, von denen einige der unten zum Abdruck gelangten Aufsätze handeln.

Die reine und die angewandte Ernährungsphysiologie der Pflanzen, beide von gleichem wissenschaftlichen Geiste beseelt, unterscheiden sich im wesentlichen dadurch voneinander, daß diese nach Kräften danach streben muß, praktisch verwertbare Ergebnisse zu bringen, die sich möglichst bald volkswirtschaftlich in günstigem Sinne auswirken werden, während die reine Stoffwechselphysiologie nicht danach fragt, was die Wahrheiten, die sie zu ermitteln strebt, in materieller Hinsicht nützen, zunächst somit nur ideelle Werte schafft. Wenn die letztere also grundsätzlich darauf verzichtet, durch ihre Arbeit einen sofort greifbaren materiellen Nutzen zu stiften, so darf sie gleichwohl zuversichtlich hoffen, daß auch ihre Ergebnisse schließlich über kurz oder lang dazu berufen sein werden, der landwirtschaftlichen, der Forstbotanik, der pharmazeutischen und gärtnerischen Botanik, der Pathologie der Kultur- und Nutzpflanzen, kurz allen Zweigen der wirtschaftlichen Pflanzenkunde, wie sie auch heißen mögen, zugute kommen werden. In diesem Sinne soll also die reine Ernährungslehre der angewandten hilfreich zur Seite treten und dauerhafte Grundlagen schaffen, auf welchen jene dann sicher weiterbauen kann, als Gegengabe immer wieder neue Anregungen von ihrer praktisch eingestellten Schwesterwissenschaft empfangend.

Nun läßt es sich aber nicht leugnen, daß die reine Ernährungsphysiologie der Pflanzen dieser schönen und dankbaren Aufgabe in den letzten Jahrzehnten nicht in so weitgehendem Maße hat gerecht werden können, als es wünschenswert gewesen wäre. Der Grund

dafür liegt, wenn vielleicht nicht ausschließlich, so doch zum großen Teile in dem Mangel an ausreichenden Mitteln, welche jegliche experimentelle Forscherarbeit zur Voraussetzung hat, wenn sie erfolgreich sein soll. Unter den botanischen, auf experimenteller Grundlage fortschreitenden Sonderdisziplinen ist es aber fraglos die Ernährungsphysiologie, welche unter diesem Nachteil besonders gelitten hat. Es hieße Vogel-Strauß-Politik treiben, wenn man übersehen wollte, daß infolge dieses Übelstandes die deutsche Forschung auf dem in Rede stehenden Gebiete mit der des Auslandes nicht immer gleichen Schritt hat halten können.

Bei der eben gekennzeichneten Sachlage ist es nun besonders zu begrüßen, daß es die Notgemeinschaft der Deutschen Wissenschaft in der ihr eigenen weitschauenden Weise unternommen hat, wie sie andere Wissenszweige unterstützt, so auch der ernährungsphysiologischen Erforschung der Pflanzenwelt ihre Hilfe zu leihen und sie durch Gewährung von Mitteln an Hochschulinstitute Deutschlands zu fördern. Sie erhebt dabei die Forderung, daß streng wissenschaftliche Fragestellung, verbunden mit einer Methodik, die der in der Physik oder Chemie angewendeten nicht nachsteht, der Ausgangspunkt dieser ernährungsphysiologischen Arbeit der Botaniker sein möge. So schwebt der Notgemeinschaft das Ziel vor, die reine Ernährungsphysiologie in die Lage zu versetzen, mehr als es ihr in letzter Zeit möglich war, der wirtschaftlichen Pflanzenkunde als helfende Schwester zur Seite zu treten.

Um die Faktoren zu nennen, von welchen heutigen Tages der Fortschritt der naturwissenschaftlichen Erkenntnis abhängt, wird man das bekannte englische Wort „Men, not Means" umwandeln müssen in „Men and Means"; Menschen und Mittel sind nötig. Wenn vor einigen Jahrzehnten angesichts der fast überwältigenden Fortschritte, welche damals Botanik und Zoologie dank der mikroskopischen Erforschung der Pflanzen- und Tierwelt machten, jemand gesagt hat, der beste Biologe sei der, welcher das beste Mikroskop sein eigen nenne, so war dieser Ausspruch ebensowenig wörtlich zu nehmen, wie wenn jetzt jemand die Behauptung aufstellen wollte, der beste Physiologe sei der, welcher die beste Apparatur besitze und zu meistern verstehe. Denn auch bei der Erforschung der Natur steht an erster Stelle die wissenschaftliche Persönlichkeit, welche Probleme sieht, an denen andere blind vorbeigehen. An zweiter Stelle aber kommen, weit mehr als in früheren Perioden, die Mittel zur Beschaffung der

Apparate und Instrumente, die erforderlich sind, um die Gedanken in die Tat umzusetzen. Werfen wir einmal, um das zu erläutern, einen Blick auf eine Schwesterwissenschaft der Ernährungsphysiologie, auf die Organographie der Pflanzen, welche die Abhängigkeit der Pflanzengestalt von den Umweltfaktoren studiert. Als sie vor etwa zwanzig Jahren noch das Glück hatte, nicht selten in wissenschaftliches Neuland mit all seinen Reizen vorstoßen zu können, konnte ein hervorragender deutscher Morphologe sagen, daß zur Lösung eines entwicklungsphysiologischen Problems der Organographie oft nicht viel mehr gehöre als ein Topf mit Erdboden, eine Pflanze und eine Fragestellung. Den Sinn eines solchen Ausspruches wird sich jeder Naturforscher gern zu eigen machen. Aber heute, da jenes Neuland gewaltig zusammengeschrumpft ist, da es auch bei derartigen organographischen Experimenten in vielen Fällen darauf ankommt, jene Umweltfaktoren, die Temperatur, die Feuchtigkeit des Bodens und der Luft, die Bestrahlung, der die Pflanze ausgesetzt wird, die Absorptions- und Saugkraft des Bodens, seine Reaktion und seinen Gehalt an Nährstoffen und anderes mehr so genau wie möglich zu ermitteln, gilt es doch auch für die Organographie nicht mehr in dem Maße wie früher, daß sie fast ganz ohne kostspielige Apparate auskommen kann. Eine ganz entsprechende Entwicklung sehen wir bei den anderen botanischen Disziplinen, etwa der Pflanzengeographie, der Floristik, der Systematik. Im selben Maße, wie sie mehr und mehr zu experimentierenden Wissenschaften werden, brauchen sie auch mehr und mehr wertvolle Apparaturen. Naturgemäß gilt das aber in noch weit höherem Maße für die Physiologie, die von Anfang an als ausgesprochene Experimentalwissenschaft auf Apparate angewiesen war, mag es auch stets ihr Ruhmestitel gewesen sein, daß sie jederzeit versucht hat, mit möglichst einfachen Apparaten auszukommen. *Und ganz besonders gilt es auch für die Ernährungsphysiologie der Gewächse.* Wie ausgezeichnet hier die Notgemeinschaft mit ihrer trefflichen Organisation und Hilfsbereitschaft schon gewirkt hat, vermag jeder ernährungsphysiologisch tätige Botaniker freudig zu ermessen, der, um einige beliebige Beispiele herauszugreifen, früher auf gewöhnliche analytische Waagen angewiesen, jetzt mit einer Torsionswaage in kurzer Zeit Hunderte von feinen Wägungen ausführen kann; der nur ein einziges Mal die Vorteile der Mikroapparaturen bei seinen chemischen Analysen kennengelernt hat; der sich früher mit schlecht durchlüfteten Gasthermostaten abquälen mußte

und jetzt über die Wohltat elektrisch heizbarer Brutschränke verfügt; der sich mit schlechtem destilliertem Wasser und unsauberen Chemikalien begnügen mußte und nun diese Übelstände zum großen Teile behoben sieht; der, falls erforderlich, mit Quarz- statt mit Glasgefäßen arbeiten kann; der Mittel dafür erhält, um sich für seine besonderen Zwecke nach eigenen Angaben Apparate, die bis dahin im Handel nicht erhältlich sind, bauen zu lassen und sie auch gleichstrebenden Forschern zu übermitteln.

Und noch ein Punkt ist zu betonen: Jeder Pflanzenphysiologe kennt die große Bedeutung der in unserer Wissenschaft sogenannten „Begrenzenden Faktoren", von deren Ausmaß die Schnelligkeit eines physiologischen Vorganges abhängt. Hat er in seinen Versuchen dafür gesorgt, daß ein bis dahin begrenzender Faktor aus dem begrenzenden Stadium heraustritt, so kann alsbald ein anderer Faktor seinerseits in die Schar der begrenzenden eintreten. Übertragen wir das auf den wissenschaftlichen Betrieb in unseren Instituten, so kann es gar zu leicht vorkommen, daß dann, wenn es nicht mehr der Mangel an Apparaten ist, welcher die wissenschaftliche Arbeit hemmt, ein anderer Faktor zum hemmenden wird: der Mangel an geeigneten Hilfskräften, die der toten Apparatur erst Leben verleihen. Deshalb begrüßt es auch die Ernährungsphysiologie der Pflanzen besonders dankbar, daß die Notgemeinschaft es jungen Forschern durch Gewährung von Stipendien ermöglicht, sich der Wissenschaft dienstbar zu erweisen. — „Men and Means."

— — — — — — — — — — — — — — — — —

Wenden wir uns den einzelnen Problemen des Pflanzenstoffwechsels zu, deren Förderung im Sinne der eben genannten Anregung der Notgemeinschaft liegt, so kann in der unten folgenden ersten Artikelserie erst ein kleiner Teil behandelt werden; weitere Aufsätze, z. B. aus dem Gebiete der Zellphysiologie, der Nährsalzaufnahme und des Mineralstoffwechsels, des Wasserhaushaltes, der Atmungserscheinungen sollen folgen.

Der Versuch, möglichst alle Fragen, die sich der Bearbeitung darbieten, bereits hier in diesen Zeilen im einzelnen namhaft zu machen, müßte auf knappem Raum scheitern, auch wäre er kaum angebracht, da es weitaus wichtiger ist, daß in den unten folgenden Aufsätzen gezeigt wird, was erreicht ist, als daß hier aufgedeckt wird, was etwa noch erreicht werden soll. Ich beschränke mich daher auf einige allgemeine Andeutungen. Die allermeisten Stoffwechselfragen, die es heute weiter

zu vertiefen gilt, etwa die Struktur der lebenden Substanz und die mannigfachen, sich daran anschließenden zellphysiologischen Fragen; die Aufnahme von Nährstoffen; die Bildung organischer Stoffe aus anorganischem Rohmaterial; die Aufnahme organischer Nährstoffe durch Fäulnisbewohner und Schmarotzer; die Assimilation des Stickstoffs und der Aschensalze; die Wandlungen der Kohlehydrate, Fette und Eiweißkörper; die Wanderung der Nährstoffe im Innern der Zelle, von Zelle zu Zelle, Gewebe zu Gewebe und Organ zu Organ, die allermeisten dieser Probleme sind in der Pflanzenphysiologie W. Pfeffers (I. Band, 1897) bereits formuliert oder klingen doch in ihr fast alle schon leise an, wenngleich die in den letzten Jahrzehnten rüstig vorwärtsgeschrittene biochemische Forschung auf vielen Gebieten neue Wege gezeigt und Richtungen eingeschlagen hat, die diesem Meister der pflanzenphysiologischen Forschung nicht immer vorgeschwebt haben mögen.

Im allgemeinen wird sich die Untersuchung eines Stoffwechselvorganges so gestalten, daß eine Pflanze, tunlichst in Reinkultur, um den Einfluß anhaftender Mikroorganismen, welche die Ergebnisse trüben könnten, auszuschließen, der Wirkung genau definierter Faktoren, von deren Gesamtheit der Ablauf des Vorganges abhängt, ausgesetzt wird; man wird dabei auch nicht davor zurückschrecken, Faktoren, die in natura nicht vorkommen, etwa Narkotika, monochromatisches Licht usw., wirken zu lassen oder Faktoren, die am natürlichen Standort nie fehlen, etwa Kohlensäure, auszuschließen, oder aber natürliche Faktoren, wie Licht und Temperatur, oder Nährstoffe in nicht natürlicher Intensität oder Konzentration einwirken zu lassen, um das Wesen des Vorganges auch durch künstliche Beeinflussung zu erhellen. Stets wird man aber im Anschluß daran denselben Stoffwechselvorgang auch unter möglichst naturgetreuen Bedingungen beobachten. „Immer“, so schreibt Pfeffer, „wird es den wahren Forscher aus den engen Räumen des Laboratoriums in das Freie zu unserer großen Lehrmeisterin treiben, um zu prüfen, inwieweit an der Hand der gewonnenen Erfahrungen ein Verständnis des wechselvollen Waltens in der Natur möglich ist.“

Über der Beobachtung der Reaktionen unserer Versuchspflanzen auf die Faktoren der toten Umwelt dürfen wir die Beeinflussung des Stoffwechsels durch Lebewesen, mit denen jene ihre Standorte draußen in der Wildnis oder auf den Äckern oder in den Forsten, sei es in gegenseitiger Förderung, sei es in Kampfstellung, teilen,

nicht vergessen. Die Veränderung des normalen Stoffwechsels einer Getreidepflanze durch den Befall mit Rost- oder Brandpilzen, der Vergleich des Eiweißstoffwechsels einer Lupine, die man in Reinkultur züchtet mit einer anderen, die in Symbiose mit den allbekannten stickstoffbindenden Bakterien lebt; der „Sinn der Mykorrhizenbildung", jenes eigenartigen ernährungsphysiologischen Konsortiums zwischen Baumwurzeln und Pilzen, solche und analoge Fragen werden Gegenstand unseres besonderen Interesses sein müssen, wenn wir die Erfahrungen des Laboratoriums oder Versuchshauses auf das Freie übertragen wollen.

Was die Auswahl der Pflanzen betrifft, welche Gegenstand dieser Stoffwechselversuche sind, und bei welchen, soweit es möglich ist, bestimmte, rein gezüchtete Sorten verwendet werden sollten, so ist es wohl kein Zufall, daß die Ernährungslehre sich besonders häufig solcher Versuchspflanzen bedient, welche gleichzeitig Kultur- oder Nutzpflanzen der Menschheit sind: Kreuzblütler, Schmetterlingsblütler, Gräser. Der Grund dafür mag zum Teil äußerlich sein, indem solche Gewächse leichter zur Hand sind. Zum anderen Teil aber ist er wohl auch darin zu suchen, daß es offenbar vielfach dieselben spezifischen Befähigungen sind, die ein Gewächs zur Kulturpflanze stempeln und die dasselbe Gewächs nach den Erfahrungen der Forscher besonders geeignet erscheinen lassen für die künstlichen Bedingungen des Laboratoriumlebens. Solche Erfahrungen früherer Forscher, in denen wir wiederum ein Band erblicken, das die reine mit der angewandten Ernährungsphysiologie verknüpft, wird man sich auch heute bei der Auswahl seiner Versuchsobjekte zunutze machen, im übrigen aber nie müde werden, nach neuen geeigneten Versuchsobjekten, gleichgültig, ob es Kulturgewächse oder wild wachsende Pflanzen sind, zu suchen. Denn bei der Erfassung und weiteren Klärung von Stoffwechselfragen wird es nicht nur darauf ankommen, die den Gewächsen gemeinsamen Merkmale herauszuschälen, sondern ganz besonders auch auf die unterschiedlichen Züge im Stoffwechsel zu achten, mögen solche Unterschiede bei den höheren Pflanzen auch mehr oder minder nur gradueller Art sein. Die einen Pflanzen werden in ihrem Stoffwechsel ökonomischer arbeiten, d. h. der Baustoffwechsel wird bei ihnen im Vergleich zum Betriebsstoffwechsel ausgiebiger sein als bei den anderen. Die einen werden zur Erreichung eines gleichen Ertrages einer geringeren Wasserdurchströmung bedürfen als die anderen, ihre Dürreresistenz wird größer sein. Die einen

werden nicht im gleichen Maße wie die anderen an ganz bestimmte Böden gebunden sein, alles Unterschiede, deren gleich große theoretische und praktische Bedeutung einleuchtet. Über den höheren Pflanzen wird man aber die einfacher organisierten nicht vergessen; nicht etwa nur deshalb, weil wir auch unter diesen Kulturpflanzen, etwa die Hefen, antreffen, oder aber Schädlinge unserer Kulturpflanzen, die wir bekämpfen müssen, sondern besonders deshalb, weil niedere Pflanzen vielfach über biochemische Befähigungen verfügen, welche nicht nur dem Grade, sondern dem Wesen nach verschieden sind von denen, welche dem Stoffwechsel höherer Gewächse zu eigen sind. Viele Bakterien sind mit Pasteur als „Totengräber der lebendigen Natur" zu bezeichnen, weil sie organische Stoffe, Eiweißkörper, Zellulose usw. im großen Umfang der anorganischen Natur wiedergeben, andere benutzen an Stelle von Stickstoffverbindungen den gasförmigen Stickstoff zum Ausgangspunkt ihrer Biosynthesen; wieder andere verstehen es, sich durch physiologische Verbrennung von Ammoniak zu Salpetersäure Betriebsenergie zu verschaffen — um hier nur einige wenige jener Befähigungen zu streifen, welche den höheren Pflanzen zwar abgehen, aber für sie alle, auch für die Kulturgewächse, überhaupt für den ganzen Stoffkreislauf auf der Erde, von Bedeutung sind. Die weitere Erforschung dieser besonders interessanten spezialisierten Stoffwechselvorgänge wird uns jederzeit ganz besonders am Herzen liegen und auch die praktische Ernährungslehre fördern.

Es wird sich empfehlen, diesen biochemischen Studien im engeren Sinne auch solche anzugliedern, die das Gebiet der Entwicklungsphysiologie betreffen. Stoff und Form gehören zusammen. Da Ernährung und Stoffwechsel stets an die lebendige Form gebunden sind, wird die Beherrschung der Formbildung einer Pflanze es erleichtern, auch ihren Stoffwechsel in die gewünschten Bahnen zu lenken. Wer die Ausbildung eines Wurzelsystems beeinflussen kann, wird auch die Aufnahme der Nährstoffe durch die Wurzel beeinflussen können, wer durch bestimmte Kulturbedingungen das grüne Blatt zu einer möglichst leistungsfähigen Fläche formen kann, wird auch ein Optimum der Produktion organischer Substanz erzielen.

Rückblickend dürfen wir unserer Überzeugung Ausdruck geben, daß der Rahmen, innerhalb dessen sich die ernährungsphysiologische Arbeit der Botaniker vollzieht, nicht zu eng gespannt werden sollte; nur Freiheit in der Fragestellung verbürgt den wissenschaftlichen Erfolg.

„Keine Frage ist so eigenartig," so oder ähnlich soll sich A. de Bary, einer der verdientesten Botaniker der zweiten Hälfte des vorigen Jahrhunderts ausgesprochen haben, „daß man sie der Natur nicht vorlegen dürfte." Um eine Gemeinschaftsarbeit wird es sich insofern handeln, als auf rein wissenschaftlicher Fragestellung aufgebaute und mit dem exaktesten Rüstzeug der Physiologie durchgeführte Untersuchungen des Pflanzenstoffwechsels in ihr vereinigt werden sollen, die endlich auch dem Volksganzen zugute kommen werden.

W. Benecke

I

Untersuchungen über den pflanzlichen Stoffwechsel aus dem Botanischen Institut der Universität Leipzig

1. Einleitung

Es ist noch nicht lange her, daß man von dem Stoffwechsel, der dauernd in jeder Pflanzenzelle vor sich geht, fast gar nichts wußte, während man über den der höheren Tiere, insbesondere des Menschen, seit langem viel besser unterrichtet ist. Hier war natürlich der Anreiz zu einer möglichst umfassenden und eindringenden Erforschung des Stoffwechsels durch seine Wichtigkeit für die Erkenntnis und Heilung krankhafter Zustände gegeben. Zudem schienen stoffwechselphysiologische Fragen beim Menschen und höheren Tier auch besser angreifbar, insofern hier für die chemische Untersuchung leicht größere Mengen von Körperflüssigkeit (Blut, Harn, Magen- und Darminhalt, Drüsensäfte usw.) zur Verfügung stehen, während der Pflanze bei ihrer geringen inneren Gliederung und vorwiegenden Oberflächenentfaltung solche Hohlräume und große, einheitliche innere Organe usw. fehlen, ihre Körpersäfte vielmehr in unzähligen winzigen Portionen auf die einzelnen Zellen verstreut sind und ihre nach Funktion und Bau verschiedenartigen Gewebearten , die sich etwa mit den inneren Tierorganen vergleichen lassen, alle mehr oder weniger untereinander gemischt und fest verwachsen sind, sich nicht oder nur in Ausnahmefällen zu gesonderter Untersuchung in genügender Menge isolieren lassen.

Diese großen Schwierigkeiten bedingen es, daß wir nur in seltenen Ausnahmefällen Aussicht haben, den sicherlich oft verschiedenen Chemismus der einzelnen Gewebearten zu erfassen, und daß wir nur gewisse Stoffe, welche Reaktionen ergeben, an denen sie unter dem Mikroskop für das Auge erkennbar werden, einigermaßen lokalisieren können. So müssen wir fast durchweg auf eine stoffwechselphysiologische Individualisierung der Gewebe notgedrungen verzichten oder,

wie dies von anderer Seite ausgedrückt wurde, vorläufig die ganze Pflanze oder mindestens größere Teile von ihr als „einheitlichen Reaktionsraum" betrachten. Der Mangel eines Verdauungstraktus und der Ausscheidung dienender Organe bei der Pflanze hat für uns aber auch weiter die Folge, daß wir oft im Zweifel bleiben, welche von den zahlreichen nebeneinander in ihr angetroffenen Stoffen nun Reserve- oder intermediäre Stoffe sind, d. h. von ihr noch weiter verarbeitet werden oder wenigstens unter besonderen Umständen noch in den Stoffwechsel wieder einbezogen werden können, und welche reine Abfallsdeposita darstellen. Bedenken wir weiter, daß nun noch die verschlungenen genetischen Beziehungen aller dieser Stoffe zu ermitteln bleiben, wofür wir, anders als im Tierkörper, an deren Lokalisation nur in seltensten Fällen einen Anhalt haben, so wird verständlich, daß wir erst im allerersten Anfange eines wirklichen Wissens über die sich im Pflanzeninnern abspielenden chemischen Vorgänge stehen, während wir schon seit längerer Zeit über zweifellose Ausscheidungs- und Aufnahmevorgänge, wie z. B. den Gaswechsel der Pflanze mit der Außenwelt, viel besser unterrichtet sind.

Doch hat unser Forschungsgebiet in neuerer Zeit durch mehrere Umstände einen mächtigen Anstoß erhalten. Einmal sachlich dadurch, daß in der organischen Chemie das Interesse an den in den Lebewesen auftretenden Stoffen und chemischen Reaktionen immer stärker in den Vordergrund getreten ist, also durch den gewaltigen Aufschwung der physiologischen Chemie, die in erster Linie freilich der Tierphysiologie zugute kam, jetzt sich aber mehr und mehr auch der Pflanze zuwendet. Die organische Chemie ihrerseits erhielt nun dadurch nicht allein den Impuls, sich dem Studium vielfach vernachlässigter, interessanter Stoffgruppen und Reaktionsweisen zuzuwenden, sondern, und damit kommen wir zum zweiten Punkt, auch einen solchen zur Ausbildung besonderer, neuer, analytischer Methoden, unter denen die mikroanalytischen eine enorme Bedeutung erlangt haben, weil sie es ermöglichen, auch mit kleinsten Stoffmengen mit aller wünschenswerten und notwendigen Genauigkeit zu arbeiten. So geben diese Methoden gerade der pflanzlichen Stoffwechselphysiologie die Mittel an die Hand, einen Teil der aus der Eigenart der pflanzlichen Organisation sich ergebenden Schwierigkeiten mehr und mehr zu überwinden, und man darf nunmehr hoffen, daß manche bisher nahezu unzugänglich gewesenen Gebiete der chemischen Pflanzenphysiologie einen raschen Aufschwung nehmen werden, und daß so z. B. auch die

Land- und Forstwirtschaft allmählich eine stoffwechselphysiologische Grundlage erhalten können, deren sie bisher zu ihrem Schaden entbehren mußten.

Wir geben nun im folgenden einen gedrängten Bericht über einige einschlägige, letzthin im hiesigen Institut ausgeführte Arbeiten, soweit sie im Druck erschienen sind.

2. Über den Stickstoff-Stoffwechsel der höheren Pflanze

Der Stickstoff (N) ist insbesondere für die Eiweißbildung unerläßlich. Die Pflanze nimmt ihn aus dem Boden in Form von Ammoniak oder Salpeter als Rohmaterial auf und paart nun das aufgenommene oder von ihr durch Reduktion aus Salpeter gebildete Ammoniak (NH_3) mit gewissen, nicht näher bekannten kohlenstoff-(C)haltigen organischen Verbindungen zu den wichtigen Aminosäuren, d. h. Säuren, in denen ein an C befindliches Wasserstoffatom durch die Aminogruppe (NH_2) ersetzt ist. Diese Aminosäuren sind die unmittelbaren Bausteine des Eiweißmoleküls und treten auch als deren Spaltungsprodukte überall da auf, wo die Pflanze Eiweiß abbaut. Ein solcher Abbau kann z. B. eintreten, wenn organisch gebundener N im Pflanzenkörper gewissen im Wachstum begriffenen oder Speicherorganen zugeleitet werden muß (da das kolloidale Eiweiß als solches sich für die Wanderung innerhalb von Pflanzengewebe wenig eignet) oder wo Eiweiß als Atmungsstoff dem Betriebe der Pflanze dienen, d. h. also verbrannt werden soll. Sehr wichtig und physiologisch besonders interessant sind auch die sogenannten Säureamide, Asparagin und Glutamin, welche Amide von Aminosäuren sind (wobei eine OH-Gruppe der für die organischen Säuren, also auch die Aminosäuren, bezeichnenden Carboxylgruppe [COOH] durch die Amidgruppe NH_2 ersetzt ist, also: $CONH_2$), und die allgemein in höheren Pflanzen vorkommen.

Da nun bisher eigentlich der N-Stoffwechsel meist nur an Keimlingspflanzen studiert worden war, wo allerdings ein besonders lebhafter Umsatz des in den Samen gespeicherten Eiweißes stattfindet, so ergab sich die wichtige Aufgabe, dies auch für die weiteren Lebensstufen der Pflanze, insbesondere auch mit Berücksichtigung der Blätter, durchzuführen.

Diese Aufgabe wurde von K. Mothes[1]) durchgeführt. Bei solchen Untersuchungen muß man sich wegen der überaus zeitraubenden Methodik zunächst einmal auf einige besonders wichtige Verbindungen beschränken, die man lediglich gruppenweise erfaßt, ohne also die Analyse bis zu den einzelnen Stoffen auszudehnen, was so gut wie undurchführbar wäre. Diese Gruppen von Verbindungen werden nun ihrerseits wiederum nur auf die Mengen von Stickstoff untersucht, durch die sie jeweils vertreten sind. Auf diese Weise erfaßt man gewöhnlich zunächst nur folgende Größen („N-Fraktionen"): 1. den gesamten N-Gehalt, 2. den Eiweiß-N, 3. den „löslichen" N, d. h. den N aller derjenigen N-haltigen Stoffe, welche durch gewisse Eiweißfällungsmittel nicht mit niedergerissen werden; 1 ist also die Summe von 2 und 3. Vom „löslichen" N kann man wieder 4. den N der Säureamide (Asparagin und Glutamin) und 5. den N des als solchen vorhandenen Ammoniaks gesondert bestimmen und erhält durch Abzug der letzten beiden Größen 4 und 5 von 3 schließlich 6. noch den sogenannten Rest-N, welcher in weitaus erster Linie den N der Aminosäuren umfaßt, demgegenüber die hierbei mit inbegriffenen anderen Stoffe an Menge meist keine Rolle spielen. Besonders eingehend wurde von Mothes das Schicksal und die Bedeutung der, wie erwähnt, für die Pflanze so charakteristischen Amide (4) behandelt.

Es zeigte sich nun bei Bohnen und anderen Pflanzen, daß im Laufe einer Jahresentwicklungsperiode das Eiweiß in den Blättern abnimmt, während der Gehalt an Amiden und Aminosäuren ziemlich gleichbleibt. Nachts sank in ausgewachsenen Blättern die Menge des Gesamt-N durch Ableitung in andere Organe ab. Dabei nahmen die Amide stark, das Eiweiß wenig ab, die Aminosäuren bald stark, bald wenig. Junge Blätter zeigen solche Veränderungen nicht oder kaum. Wie auf alle übrigen Lebenserscheinungen, übt die Temperatur auch auf den N-Stoffwechsel erheblichen Einfluß aus, hohe begünstigt den Eiweißabbau. Ein wichtiger Einfluß kommt nun auch dem Gehalt der Blätter an Kohlenhydraten (Stärke, Zucker) zu, die in ihnen ja im Tageslicht durch die Assimilation der Luftkohlensäure entstehen. Verhindert man die Assimilation durch künstliche Verdunkelung, so beobachtet man in ausgewachsenen Blättern eine Abwanderung an

[1]) „Ein Beitrag zur Kenntnis des N-Stoffwechsels höherer Pflanzen unter Ausschluß des Keimlingsstadiums und unter besonderer Berücksichtigung der Säureamide." (Planta I, 1927, 472—552.)

Gesamt-N, die noch stärker ist in verdunkelten Blättern beleuchteter Pflanzen als in solchen ganz verdunkelter Pflanzen. Gleichzeitig findet in allen Fällen ein starker Eiweißabbau statt, wobei die Blätter schließlich vergilben und absterben. Dieser Eiweißabbau zeigt sich natürlich im Ansteigen des löslichen N, dessen Zusammensetzung sich allmählich auch verändert. Zunächst erscheinen reine (hydrolytische) Eiweiß-Spaltprodukte, die Aminosäuren, reichlich, dann aber greifen, offenbar wohl aus Mangel an Kohlenhydraten als dem regulären Atmungsmaterial, mehr und mehr Verbrennungsprozesse um sich. So treten neben den Aminosäuren die Amide immer mehr hervor. Bei länger dauernden Versuchen erscheint schließlich ein immer größerer Teil des löslichen N als Ammoniak, der offenbar auf Kosten der Aminosäuren entstanden ist. Daß diese Ammoniakbildung nicht auf hydrolytischem (d. h. durch bloße Spaltung unter Wasseraufnahme), sondern oxydativem Wege stattfindet, ließ sich in Übereinstimmung mit den Ergebnissen früherer Forscher durch sogenannte Anaërobiose zeigen. Läßt man nämlich lebende Blätter unter Sauerstoffausschluß in reiner N-Atmosphäre verweilen, was sie tagelang gut aushalten, so erhält man andere Produkte, d. h. es zeigt sich nur ein Anwachsen der Aminosäuren, also wohl nur ein hydrolytischer Eiweißabbau, während weder Amide noch Ammoniak entstehen, deren Bildung somit wohl oxydative Vorgänge voraussetzt.

Bringt man die Blätter in einen verdunkelten Raum, der Chloroform enthält, so gehen die abbauenden chemischen Vorgänge, selbst wenn die Blätter (nach etwa 3 Tagen) absterben, meist ungestört in ihnen („autolytisch") weiter, das Eiweiß nimmt immer stärker ab, Aminosäuren steigen an. Besonders stark nimmt der Ammoniakgehalt zu (aber nur bei O_2-Gegenwart, vgl. oben), während die Amide abnehmen. Unterbricht man die Narkose, bevor die Blätter abgestorben sind, und belichtet man sie nun, d. h. sorgt für das Auftreten von Kohlenhydraten, so steigt der Amidgehalt sofort wieder unter starker Abnahme von Ammoniak an, der somit der Ausgangsstoff der Amidbildung ist. Wenn man Blätter unter sterilen Bedingungen auf Ammonsalzlösungen bringt, also künstlich N zuführt, so wird dieser alsbald zur Eiweißsynthese benutzt, vorausgesetzt, daß genügend N-freie Baustoffe (Kohlenhydrate) vorhanden sind, sei es auf Grund von Belichtung oder äußerer Zuckerdarbietung in der Nährlösung. Fehlt es jedoch an diesen Stoffen, so setzt Amidbildung auf

Kosten des Ammoniaks, bei noch größerem Mangel sogar auf Kosten von Eiweiß ein. Ähnlich kann man den Blättern in Nährlösungen auch künstlich Asparagin, also Amid, zuführen. Wird auch hier Mangel an Kohlenhydraten vermieden, so kann auf Kosten des Asparagins Eiweißsynthese stattfinden.

Eigentümlicherweise zeigten aber manche Blätter dies Verhalten nicht; sie bauen vielmehr auch am Licht, also trotz Kohlenhydratanwesenheit, Eiweiß unter Amidbildung ab, können also Eiweiß nicht aus den Spaltprodukten regenerieren und vermögen dies folglich auch nicht auf Kosten dargebotenen Asparagins. Es sind alte Blätter, von denen sich somit herausstellt, daß sie sich stoffwechselphysiologisch wesentlich anders als junge und eben ausgewachsene verhalten. Nur in diesen wird, wie eine besonders auf die Rolle des Blattalters abzielende Versuchsreihe zeigte, bei Gegenwart genügender Kohlenhydratmengen immer Eiweißsynthese hervorgerufen, falls Ammoniak oder Asparagin vorhanden sind. Auch in der Narkose bauen sie unter solchen Umständen kein Eiweiß ab. Dagegen bauen alte Blätter Eiweiß ab, auch wenn sie auf Grund eigener Assimilation oder im Dunkelversuch auf einer Nährlösung über genügende Kohlenhydratvorräte verfügen. Auch N-Zufuhr (NH_3, Asparagin) vermag den Abbau bei ihnen nicht zu verhindern, sie können auch bei reicher N-Ernährung an Eiweißmangel zugrunde gehen.

Ein wichtiges Ergebnis dieser Untersuchungen betrifft demnach erstens das schon gestreifte Verhalten der Amide in den Blättern. Es hat sich gezeigt, daß die Entstehungsbedingungen der Amide in den Blättern dieselben sind, wie sie von Prianischnikow und seinen Schülern für Keimpflanzen festgestellt waren. Eiweiß kann, insbesondere in Blättern, aus Amiden regeneriert werden, sofern genug Kohlenhydrate zur Verfügung stehen. Die Eiweißspaltung ist für gewöhnlich eine hydrolytische, die Spaltungsprodukte werden aber zum Zweck der Energiegewinnung oxydiert, wenn Mangel an Kohlenhydraten, dem gewöhnlichen Atmungsmaterial der Pflanze, herrscht. Hierbei wird Ammoniak abgespalten, das demnach sowohl die erste wie die letzte Stufe im N-Metabolismus ist. Dieses ist giftig, seine Ansammlung im Innern der Pflanze muß deshalb von ihr vermieden werden, es wird deshalb ebenso wie von außen aufgenommenes bei Gegenwart von Kohlenhydraten zu Amiden verarbeitet und nach Auffassung von Boussingault und Prianischnikow dadurch „entgiftet“, würde also eine ähnliche Rolle in der Pflanze wie

der Harnstoff im höheren Tier spielen, der in diesem als Ammoniakentgifter dient. Im unschädlichen Amidmolekül kann die Pflanze, wenn der Kohlenhydratvorrat nicht genügt, das NH_3 so lange speichern, bis jener durch Assimilation oder Darbietung von außen genügend gestiegen ist, um eine Eiweißsynthese zu ermöglichen.

Ein zweites wichtiges Ergebnis betrifft die bereits erwähnte Rolle, welche das Alter der Blätter für deren N-Stoffwechsel spielt. Alternde Blätter unterscheiden sich von den jüngeren grundsätzlich durch die immer geringer werdende und schließlich erlöschende Fähigkeit, selbst bei reichlicher Anwesenheit von Kohlenhydraten, Eiweiß aus dessen Spaltungsprodukten zu regenerieren, vielmehr überwiegt stärker und stärker der Abbau. Im Laufe einer Entwicklungsperiode werden die Blätter immer ärmer an Eiweiß- (und Gesamt-) N, und ein gewisser, minimaler Eiweißgehalt, mit dem äußerlich ein Vergilben einhergeht, leitet schließlich das Absterben unwiderruflich ein, gleichgültig, ob dieser Zustand durch N-Hunger oder Alter erreicht ist, woran im letzteren Falle reichliche N-Ernährung oder Anwesenheit von löslichem N in den Blättern nichts mehr zu ändern vermag.

Besondere Aufmerksamkeit wurde endlich auch dem viel erörterten, aber wenig untersuchten Problem gewidmet, in welcher chemischen Form der Transport der N-Verbindungen in der Pflanze stattfindet. Es zeigte sich, daß die Dinge hier offenbar verwickelter liegen als erwartet worden war. Es wurde versucht, darüber durch Vergleich der verschiedenen Organe (Stengel, Blattstiel, Spreite, Blattnerven) hinsichtlich der qualitativen und quantitativen Zusammensetzung ihres Vorrates an N-Verbindungen zu verschiedenen Tageszeiten Aufschluß zu erhalten. Es fanden sich sogar Objekte, bei denen die Leitbündel der Blattstiele aus dem Grundparenchym mit der Pinzette sauber herausgezogen und ohne zeitraubendes Schneiden und Präparieren mit letzterem verglichen werden konnten. Die Ergebnisse waren aber nicht eindeutig. Die Achsenorgane waren bedeutend N-ärmer als die Blätter, aber relativ reicher an löslichem N und an Amiden als diese. Die Leitbündel zeigten sich besonders eiweißreich und amidarm. Die Amide und Aminosäuren der Achsenorgane scheinen vorwiegend den Blättern zu entstammen, doch ist kaum anzunehmen, daß sie dort für Transportzwecke gebildet werden. So bleibt es bei den untersuchten Pflanzen unentschieden, in welcher Form die Wanderung stattfindet, wenn überhaupt eine bestimmte dafür bevorzugt wird.

3. Über den Stoffwechsel panaschierter Pflanzen

Die eigenartige Erscheinung der in unseren Gärten so häufig anzutreffenden „panaschierten" (d. h. mit nicht gleichmäßig grünen, sondern scheckigen Blättern versehenen) Pflanzen hat seit einiger Zeit die Aufmerksamkeit der Botaniker in erhöhtem Maße auf sich gelenkt. Insbesondere wurde die Vererbungsweise der Panaschüre eifrig studiert, die sich als sehr interessant und so verschiedenartig herausstellte, daß man schon deswegen, aber auch nach der äußeren Erscheinungsform, mehrere Arten von Panaschüre unterscheiden muß. Wenig Aufmerksamkeit aber wurde bisher der physiologischen Grundfrage geschenkt, weshalb in manchen Geweben die Träger des Chlorophyllfarbstoffes, die sogenannten Plastiden, abnorm gestaltet sind und ihre normalen Farbstoffe nicht zu bilden vermögen. Zwar war die Aussicht gering, diese Frage mit glattem Schnitt lösen zu können, doch mußte es schon reizen, den Stoffwechsel solcher Zellen genauer zu untersuchen und ihn mit dem normaler zu vergleichen.

W. Schumacher[1]), der sich dieser Aufgabe unterzog, prüfte zunächst den N-Stoffwechsel und bestätigte frühere Angaben über einen verminderten Eiweiß- und vermehrten Gehalt an löslichem N im weißen Gewebe gegenüber grünem. Doch ist letztere Erscheinung nicht, wie man wohl früher glaubte, ursächlich mit der Chlorophyllzerstörung verbunden, sondern diese Differenzen zwischen weißen und grünen Zellen sind, wie sich nun zeigte, nur sekundärer Natur, hervorgerufen durch Kohlenhydratmangel infolge fehlender Assimilation. Künstliche Ernährung mit Zucker bewirkt nämlich sogleich Eiweißsynthese in den weißen Zellen, bei panaschiertem Kohl sogar in einer den grünen Zellen ebenbürtigen Weise. Dieser, für eine Eiweißsynthese unzureichende, natürliche Kohlenhydratgehalt des panaschierten Gewebes erklärt auch den Überschuß an unverarbeitetem „löslichem" N sowie den häufig großen Gehalt an Nitraten in diesen, welch letztere indessen bei Fütterung mit Zuckerlösungen alsbald durch Reduktion zu Ammoniak, wie normalerweise in gewöhnlichen Zellen, zu verschwinden beginnen. Es handelt sich also bei dem abweichenden Gehalt des panaschierten Gewebes an N-Verbindungen um Besonderheiten sekundärer Natur, zumal auch der niedrige Eiweißgehalt keine Hemmung für die Chlorophyllsynthese bildet, insofern diese unter

[1]) „Ein Beitrag zur Kenntnis des Stoffwechsels panaschierter Pflanzen." (Planta V, 1928, 161—231.)

geeigneten Umständen (in der Wärme, vgl. unten) noch bei weit geringeren Werten erfolgen kann.

Eine weitere stoffliche Besonderheit des weißen Gewebes liegt in seiner Kohlenhydratarmut im Vergleich zu grünem, doch kann auch diese nicht die Ursache der Panaschierung sein, da der Zuckergehalt in ergrünenden Zellen im Verlaufe des Ergrünungsvorganges bis auf ein Drittel des Anfangswertes absinken kann. Es ist vielmehr umgekehrt: Die Panaschierung ist die Ursache des geringen Zuckergehaltes im weißen Gewebe.

Dieser geringe Zuckergehalt der weißen Zellen, der wegen fehlender eigener Assimilation nur aus der Zufuhr von grünen Zellen stammen kann, erfordert natürlich, da ein gewisses Gleichgewicht bestehen muß, auch eine Einschränkung im Verbrauch, und so kann es nicht überraschen, daß die Atmung weißer Gewebe als schwächer befunden wurde als die grüner, eine Erscheinung, die nicht etwa in einer geringeren Fähigkeit dazu, sondern tatsächlich nur in dem spärlichen Zuckervorrat begründet liegt, denn bei hoher Temperatur gelingt es, die Atmung auf Grund künstlicher Zuckerdarbietung in den weißen Geweben sogar noch über das Maß der grünen zu heben. Das im sogenannten Atmungsquotienten $\frac{CO_2}{O_2}$ ausgedrückte Volumverhältnis der bei der Atmung beteiligten Gase (Kohlendioxyd und Sauerstoff) ist angenähert 1, woraus geschlossen werden darf, daß Zuckerzufuhr und -verbrauch sich im Gleichgewicht befinden. Denn im anderen Falle müßten nämlich, wie auch sonst bei Zuckermangel, auch nichtzuckerartige Stoffe in der Atmung verbrannt werden und dies sich in einem von 1 abweichenden Wert des erwähnten Quotienten kundtun.

Es lagen nun schon einige, z. T. allerdings widersprechende Angaben über Besonderheiten der weißen Gewebe bezüglich der in ihnen enthaltenen Fermente oder Enzyme (d. h. gewisser sehr wichtiger, wenngleich in ihrer chemischen Natur noch unbekannter Stoffe, welche für das Zustandekommen chemischer Reaktionen im Organismus unerläßlich sind) vor. Soweit diese Angaben z. B. die Anwesenheit abnormer Mengen eiweißspaltender („proteolytischer") Fermente oder von Diastase (welches Stärke in Zucker spaltet) behaupten, erwiesen sie sich als irrig. So existieren nun auch (freilich widerspruchsvolle) Angaben über die sogenannte „Peroxydase", der eine wichtige Rolle

bei der Atmung zugeschrieben wird; bald wollte man entsprechend der schwächeren Atmung weniger Peroxydase als in grünen Zellen, meist aber mehr gefunden haben, die dann für die Zerstörung von Chlorophyll verantwortlich gemacht wurde. Nach erheblicher Verbesserung der Methoden zur quantitativen Messung des genannten Enzyms konnte nun Schumacher tatsächlich überall in weißen Geweben einen erhöhten Gehalt an Peroxydase dartun, so daß also auffälligerweise geschwächte Atmung und gesteigerter Peroxydasengehalt parallel gehen. Es gelang sogar, diesen Gehalt künstlich unter der Wirkung verschiedener Außenbedingungen erheblich zu variieren. Doch fehlt jeder Beweis für eine chlorophyllzerstörende Wirkung dieses Enzyms, für die man dessen erhöhten Gehalt verantwortlich gemacht hatte. Schumacher neigt vielmehr dazu, wie hier nicht näher ausgeführt werden kann, die Peroxydasedifferenz als eine notwendige Erhöhung des Oxydationspotentials in den weißen Zellen zu deuten, die dort „durch ein verändertes Substrat oder eine Erschwerung der Oxydationsprozesse hervorgerufen wird".

Ein anderes, ebenfalls mit der Atmung, aber freilich in ganz anderer, Beziehung stehendes und in jeder lebenden Zelle enthaltenes Ferment, „Katalase", findet sich, wie gezeigt werden konnte, in den weißen Geweben in geringerer Menge als in grünen, was der Autor als den Ausdruck eines trägeren energetischen Umsatzes in jenen auffaßt, wie denn dort der Stoffumsatz überhaupt insgesamt träger verläuft als in normalen Zellen.

Es ist wohl möglich, daß diese Trägheit einen wesentlichen, also primären Faktor bei der Panaschüre darstellt, insofern eine Chlorophyllsynthese vielleicht nur „bei einem gewissen Ausmaß und einer gewissen Geschwindigkeit des energetischen Umsatzes erreicht werden" kann. In dieser Richtung sprachen die interessanten, schwer in Kürze wiederzugebenden Ergebnisse eines genauen Studiums des Ergrünungsvorganges bei panaschierten Pflanzen, der bei den verschiedenen Arten leichter oder schwerer unter gewissen Voraussetzungen durch Wärme zu erzielen ist. Besonders schön zeigte diese Ergrünungsfähigkeit eine Kohlvarietät, die im Winter panaschierte Blätter führt, im Sommer und im Warmhaus dagegen normale, gleichmäßig grüne Färbung zeigt. Im Herbst beginnen die Blätter von den Rippen aus weiß zu werden, bis schließlich rein weiße Blätter entstehen, die nur noch einen normal grünen Rand tragen. Doch findet man auch solche, die, ebenso scharf vom grünen Rand abgesetzt,

nicht rein weiße, sondern Binnenfelder in allen Abstufungen von Hellgrün bis Gelb zeigen. Hier liegt nicht etwa eine fortschreitende, langsame Verfärbung und Zersetzung von Chlorophyll vor, wie man vielfach glaubte, sondern die genaue Beobachtung zeigte, daß im Jugendalter der Blätter auf verschiedenen früheren oder späteren Stufen der Synthese des Farbstoffs eine Hemmung derselben einsetzt, und daß die Blätter die hierbei erreichte, weit unter dem Normalgrad liegende Färbung beibehalten, einen Färbungsgrad, der vielleicht durch das jeweilige Ausmaß des, wie wir sahen, trägeren Energieumsatzes solcher Blattbezirke bestimmt wird. Ähnliche Beobachtungen wurden auch an anderen panaschierten Pflanzen gemacht.

Schon Molisch beobachtete nun die Thermolabilität der Kohlpanaschüre: Eine kältepanaschierte Pflanze ergrünt, wenn in ein Warmhaus gebracht, wobei die älteren Blätter langsamer als jüngere, und nur noch wenig Farbstoff überhaupt bilden. Wichtig war nun die Feststellung Schumachers, daß auch abgeschnittene Blätter, ja sogar kleine, auf Wasser schwimmende, isolierte Gewebsstückchen von weniger als 1 qcm Durchmesser ergrünen können, so daß also zweifellos hier ein reversibler Zustand der einzelnen Zelle vorliegt. Diese Folgerung, daß die Ergrünung eine spezifische Zellreaktion ist, wird durch die mikroskopische Untersuchung des Vorganges bekräftigt, insofern er von Zelle zu Zelle verschieden schnell und intensiv verläuft, ja innerhalb einer Zelle an deren einzelnen Plastiden deutliche zeitliche Unterschiede erkennen läßt. An anderen Pflanzenarten gelangen ähnliche Versuche, die demnach zeigten, daß die Temperaturlabilität (lokale Reversibilität) der Panaschüre verbreiteter ist als bisher angenommen.

Wenn nun auch manche Beobachtungen dafür existieren, daß durch Kältewirkung (unter natürlichen Verhältnissen insbesondere im Frühjahr) ein chlorotischer (d. h. gelblicher oder blaßgrüner) oder typisch panaschierter Zustand bei manchen normalen Pflanzen (Barbaraea vulgaris, Lamium maculatum usw.) hervorgerufen werden kann, der auch dadurch an die Panaschüre erinnert, daß er durch nachträgliche Temperaturerhöhung nicht mehr gänzlich beseitigt werden kann, so zeigen uns doch viele offenbar thermostabile panaschierte Warmhauspflanzen, daß Kältewirkung schwerlich die alleinige Ursache der Panaschüre sein kann. Der Verfasser formuliert denn auch vorsichtig seine Meinung dahin, daß „der Vorgang, der zur Panaschüre führt, derartig ist, daß ihm durch eine Tempe-

raturerhöhung mehr oder weniger entgegengewirkt werden kann". Doch ist er überzeugt, daß „die Analogie, die zwischen der Thermolabilität mancher panaschierter Objekte und zwischen der Allgemeinerscheinung einer Hemmung der Chlorophyllsynthese durch niedrige Temperaturen besteht, ihrem Mechanismus nach so eng sind, daß von einer Aufklärung dieser letzten Erscheinung . . . viel, wenn nicht alles, auch für das Problem der Panaschüre erwartet werden darf". Und er vermutet mit Rücksicht auf die Ergebnisse seiner stoffwechselphysiologischen Untersuchungen, die ihn zur Anschauung eines durchweg trägeren Energieumsatzes in den weißen Geweben geführt hatten, weiter, „daß ein gewisses Maß und eine gewisse Geschwindigkeit jenes Umsatzes erreicht werden müsse, wenn es zur Chlorophyllsynthese kommen soll".

Es konnte, wie gesagt, nicht erwartet werden, daß eine Aufdeckung der primären Ursachen der Panaschüre gleich bei diesem ersten auf breiterer und exakter Grundlage erfolgten wissenschaftlichen Vorstoß glücken werde, doch wissen wir jetzt endlich etwas Sicheres über den mit der merkwürdigen Erscheinung verknüpften Stoffwechsel, und wissen ferner, was an diesen Besonderheiten sicherlich nur sekundärer Natur ist, so daß für die zukünftige Forschung nunmehr zum wenigsten eine gewisse Richtung auf das Endziel in der verwirrenden Fülle der Möglichkeiten gewiesen ist.

4. Zwei neuere Methoden der Untersuchung des Gasstoffwechsels an grünen Pflanzen

Bei der Untersuchung des Stoffwechsels höherer Pflanzen ist es stets ein Nachteil, daß man nur bestimmte Teilgebiete des chemischen Geschehens fassen kann. Hat man es mit Umsetzungen zu tun, die voraussichtlich sich in stärkerem Maße in dem Gasstoffwechsel ausprägen sollten, so empfiehlt es sich, diesen wenigstens in die Untersuchungen einzubeziehen. Stickstoff- und Säurestoffwechsel der höheren Pflanzen, denen im hiesigen Institute eingehendere Studien gewidmet sind, gehören gerade zu solchen Teilvorgängen, die unter Umständen eine Beeinflussung der Atmung im Gefolge haben. Deshalb lag es auf der Hand, sich mit den Methoden der Atmungsbestimmung ebenfalls auseinanderzusetzen, sie zu prüfen und, wo nötig, weiter zu vervollkommnen.

Der Atmungsvorgang äußert sich durch zwei Erscheinungen: Leben-

des Untersuchungsmaterial gibt Kohlendioxyd ab und nimmt Sauerstoff auf. Die abgegebene und aufgenommene Gasmenge ist — in allerdings nicht immer klar zu durchschauender Weise — von den übrigen Stoffwechselvorgängen abhängig. Es wird sich also stets darum handeln müssen, beide Gasmengen gleichzeitig zu erfassen, denn das Verhältnis beider, der sogenannte Atmungsquotient $\frac{CO_2}{O_2}$, ist ganz besonders empfindlich. Aus der Stärke seiner Größenänderung kann man ferner über die Bedeutung einer Umsetzung für den Gesamtorganismus Rückschlüsse ziehen.

Atmungsbestimmungen werden in ganz verschiedener Weise durchgeführt werden müssen, je nachdem, ob es sich um die Untersuchung großer oder kleiner Materialmengen handelt.

Große Mengen lassen nur die Bestimmung von Durchschnittswerten zu. Dafür läßt sich aber wieder eine große Genauigkeit erzielen, wenn man die bisher gebräuchlichen Methoden noch verbessert, wie es durch die Ausarbeitung eines Apparates geschehen ist, den Dr. Wetzel[1]) beschreibt (Planta IV, 503—524). Die Bestimmung erfolgt danach in einer Atmosphäre, deren Zusammensetzung möglichst geringen Schwankungen unterworfen ist.

Größere Mengen des Materials werden in ein Atmungsgefäß eingesperrt, das einem gegen die Außenwelt abgeschlossenen Röhrensystem eingefügt ist. In ihm wird dauernd mit Hilfe einer elektrisch betriebenen Pumpe die Luft durch Barytlauge getrieben. Die gebildete Kohlensäure wird von ihr alsbald als Bariumkarbonat gebunden und am Versuchsende titrimetrisch ermittelt. Da der Gehalt an Kohlendioxyd während der ganzen Versuchsdauer annähernd konstant, und zwar fast Null ist, kann es zu keiner Speicherung im Material kommen. Durch den Verbrauch von Sauerstoff von seiten des Materials sinkt nun der Gasdruck im Apparat. Füllt man öfters Sauerstoff nach, bis ein angeschlossenes Manometer gegen ein Kontrollgefäß Druckausgleich anzeigt, so wird auch der Gehalt der Versuchsatmosphäre an diesem Gase nur geringe Änderungen erfahren. Die nachgefüllten Sauerstoffmengen werden volumetrisch gemessen. Dividiert man die abgegebene Kohlendioxydmenge durch die zugeführte Sauerstoffmenge, so hat man auf diesem Wege mit großer Genauigkeit den Atmungsquotienten bestimmt. Die Anordnung

[1]) Vgl. „Zur Physiologie der organischen Säuren in grünen Pflanzen." IV. K. Wetzel: „Zur Entstehung der Oxalsäure." (Planta 4, 1927, 476—525.)

eignet sich besonders auch für niedere Temperaturen, setzt aber immer gute Funktion des Thermostaten voraus, in dessen Wasser fast alle ihre Teile untergebracht sein müssen.

Leider ist dieses genaue, wenn auch etwas mühsame Verfahren nicht für Atmungsbestimmungen im Kleinversuch mit Bruchteilen eines Grammes an Material zu brauchen. Solche Versuche sind aber unerläßlich, wenn man Lokalisationsfragen und andere individuelle Verschiedenheiten erfassen will. Es empfiehlt sich, für diesen Fall eine Versuchsanordnung zu wählen, die der Blutgasbestimmung Barcrofts ähnelt, sich aber noch enger an die Methodik Warburgs anschließt. Die Bestimmung beider Gase erfolgt manometrisch, indem die geringe Materialmenge (0,1—0,5 g) in ein direkt an das ölgefüllte Manometer angeschlossenes Atmungsgefäß eingesperrt wird. Im Gegensatz zu den beiden eben erwähnten Methoden vollzieht sich aber die Messung beider Gase am gleichen Objekte und in einem Versuchsgange. Zunächst wird dazu das Atmungsgefäß bis zum Temperaturausgleich im Thermostaten maschinell geschaukelt. Dann wird die direkte Kommunikation mit der Außenluft aufgehoben, weitergeschaukelt und nunmehr am Ende der zweiten Teilzeit ein Manometerausschlag beobachtet, der der Differenz zwischen aufgenommenem Sauerstoff und abgegebener Kohlensäure entspricht. Zu Beginn einer dritten Teilzeit des Versuchs läßt man aus einem kleinen Kapillaransatz Lauge in den Atmungstrog gelangen. Bei Versuchsende hat sie alle gebildete Kohlensäure absorbiert. Dadurch ist ein neuer Manometerausschlag aufgetreten, der zusammen mit dem zuerst beobachteten auf Grund entwickelter Formeln die Berechnung der gebildeten Kohlensäuremenge, der verbrauchten Sauerstoffmenge und schließlich die des Atmungsquotienten ermöglicht. Das Arbeiten im abgeschlossenen Gasraum macht die Anwendung des Verfahrens nur für Temperaturen oberhalb 20° C empfehlenswert, ermöglicht dann aber die Ermittelung lokaler Atmungsunterschiede mit großer Genauigkeit, was für den Physiologen von größter Bedeutung ist.

Diese zweite Methode[1]) hat bereits zu einer Anzahl von Untersuchungen gedient, deren Abschluß bevorsteht[2]).

---

[1]) Vgl. H. Ullrich und W. Ruhland, „Mikrorespirometrische Untersuchungen an höheren Pflanzen." I. (Planta V, 1928, 360—380.)

[2]) Vgl. auch W. Ruhland u. H. Ullrich: Über den Einfluß von Nitraten und von Salpetersäure auf die Atmung grüner Blätter. (Vorl. Mitt.) Planta VII, 1929, 424—426.

5. Zur Frage der Entstehung organischer Säuren in grünen Pflanzen[1])

Die organischen Säuren gehören zu den verbreitetsten Pflanzenstoffen. Auch der Nichtbotaniker kennt ihre Anwesenheit aus dem Geschmack zahlreicher Früchte, in deren unreifem Zustand sie manchmal in unerfreulich großen Mengen auftreten, indes viele reife Obstarten gerade organischen Säuren und deren Estern ihren Wohlgeschmack und die erfrischende Wirkung verdanken. Aber auch Blätter und Sproßteile grüner Pflanzen enthalten nicht selten ganz erhebliche Säuremengen, wie bereits der Geschmack von Berberitze, Sauerampfer, Rhabarber, Sauerklee usw. verrät. Die Anwendung chemischer Reagenzien zur Erkennung der Säuren erweitert die Reihe der Säurepflanzen noch ganz bedeutend. Wenn wir mit dem einfachsten Säurereagenz, einem Streifen blauen Lakmuspapier, ausgerüstet die Reaktion des Zellsaftes der Pflanzen prüfen, so werden wir an der Rötung des Papiers die regelmäßige Anwesenheit von Pflanzensäuren im Zellsaft erkennen. Tatsächlich ist aus Hunderten solcher Zellsaftprüfungen kaum e i n Fall neutraler oder gar alkalischer Reaktion bekannt geworden. Wo bei höheren Pflanzen durch künstliche Beeinflussung eine solche erzwungen wird, gehen die alkalisch reagierenden Zellen nach kurzer Zeit ein. Da nun die Pflanzen im allgemeinen die Säureradikale der aus dem Boden aufgenommenen Nährsalze rascher verarbeiten als die Basen und sie unter Zerstörung ihres Säurecharakters assimilieren, so muß ja die Pflanze zur Verhinderung einer verderblich wirkenden Reaktionsänderung des Zellsafts organische Säuren als Ersatz für die zerstörten anorganischen Säureradikale schaffen. So kommt es, daß ein großer Teil der organischen Säuren im Zellsaft nicht als freie Säuren, sondern in Form der neutralen oder sauren Salze vorliegt, woraus die Säuren nur mit Hilfe spezifischer chemischer Methoden bestimmt werden können. Dagegen gelingt eine quantitative Erfassung der Säuren durch Titration ebensowenig wie durch eine Bestimmung der Wasserstoffionenkonzentration. Hätten sich nicht die allermeisten bisherigen Säureuntersuchungen auf derartig ungeeignete Methoden gestützt, so würde längst

---

[1]) Vgl. „Zur Physiologie der organischen Säuren in grünen Pflanzen." I. W. Ruhland und K. Wetzel, Wechselbeziehungen im Stickstoff- und Säurestoffwechsel von Begonia semperflorens (Planta I, 1926, S. 565), W. Ruhland und K. Wetzel, Rheum hybridum hort. (Ebendort III, 1927, S. 765.) K. Wetzel, Zur Entstehung der Oxalsäure. (Ebendort IV, 1927, S. 476.)

zu zeigen gewesen sein, daß die organischen Säuren in Pflanzen viel weiter verbreitet sind und in manchen Pflanzen in weitaus größeren Mengen, wenn auch in gebundener Form, vorkommen, als man bisher angenommen hat. Es wäre dann auch ersichtlich geworden, daß nicht immer diejenigen Pflanzen am säurereichsten sind, die die höchste titrierbare Azidität besitzen, vielmehr von anderen Pflanzen, deren Säurecharakter hinter Salzen organischer Säuren maskiert liegt, doch an Gesamtsäure übertroffen werden können. So lagern manche Krassulazeenblätter bis zu 50% ihres Trockengewichts als äpfelsauren Kalk ein.

Es ist wohl verständlich, daß so weitverbreitete und auffällige Pflanzenstoffe, wie es die organischen Säuren sind, das lebhafteste Interesse der Botaniker geweckt haben. Wenn wir heute trotzdem noch so wenig Sicheres über deren Entstehung und Rolle im Stoffwechsel der Pflanze wissen, so möchte ich das besonders auf zwei Ursachen zurückführen:

1. Der Mangel an geeigneten analytischen Methoden zur quantitativen Erfassung der Gesamtsäuren verleitete die meisten Forscher dazu, sich mit der Bestimmung der freien Säure bzw. der sauren Salze mittels Titration zu begnügen, wobei naturgemäß nur die Veränderung im Gehalt an leicht durch Metalle ersetzbaren Wasserstoffatomen erfaßt wird.

2. Das voreilige Bestreben, die Bedeutung der Pflanzensäuren im Gesamthaushalt der Pflanze zu ermitteln, bevor über ihre Entstehung auch nur das Geringste bekannt war. Nimmt man noch die ausgesprochene Neigung vergangener Forschungsepochen zu rein teleologischer Betrachtungsweise hinzu, so verwundert das magere Ergebnis all dieser Forschungen nicht, das in einer Fülle von Hypothesen bestand, die alle besagen, welche Bedeutung die Pflanzensäuren möglicherweise haben könnten, ohne Entscheidungsmöglichkeit darüber, welche Säurewirkung für den ungestörten Ablauf der physiologischen Prozesse eine für die Pflanze lebenswichtige Rolle spielt. Daß — um nur ein Beispiel anzuführen — im Hautgewebe der Pflanzen eingelagerte Kristallnadelbündel von oxalsaurem Kalk den Schnecken den Appetit an diesen Pflanzen verderben können, scheint ebenso gewiß wie die andere Tatsache, daß die „ungeschützten" Pflanzen den Kampf mit den Schnecken ganz gut überstehen. Ähnlich steht es mit anderen Hypothesen; sie gehen in ihrer Beweiskraft über bloße Vermutungen nicht hinaus. Es scheint uns daher müßig, die Zahl dieser

Theorien weiter zu vermehren, bevor die Frage der Entstehung und des Schicksals der organischen Säuren im pflanzlichen Stoffwechsel eine Aufhellung erfahren hat. Wenn auch allen Pflanzensäuren möglicherweise eine gleiche oder ähnliche Bedeutung zukommen mag, so wird mindestens ihre Entstehung entsprechend ihrer verschiedenen chemischen Konstitution getrennte Wege gehen. Wir müssen daher im Rahmen unserer Betrachtung einige wenige der wichtigsten Säuren herausgreifen. Aus methodischen Gründen wählen wir die einfach gebauten, biologisch relativ beständigen Oxal- und Äpfelsäure.

Theorien über die Bildung von Oxal- und Äpfelsäure.

So vielgestaltig und widersprechend die Ansichten über die Säurebildung auch im einzelnen sind, so lassen sie sich doch um drei Grundgedanken gruppieren:

1. Eine ältere Theorie bringt die Bildung der Oxalsäure in engste Verbindung mit der Kohlensäureassimilation, verlegt also den Ort ihrer Entstehung in die Chloroplasten der Blätter. Danach wäre die Oxalsäure ein Produkt unvollkommener Reduktion der Kohlensäure, eine Zwischenstation auf dem Wege von der anorganischen Kohlensäure zum ersten stabilen Assimilationsprodukt, dem Zucker. Experimentelle Stützen für diese Annahme waren kaum vorhanden, deren Unhaltbarkeit in dieser allgemeinen Form schon durch den Hinweis auf die Fähigkeit verdunkelter und chlorophyllfreier Pflanzen zur Säurebildung dargelegt wird.

2. Einen viel größeren Kreis von Anhängern vermochte bis in die neueste Zeit herein eine andere Anschauung zu gewinnen, wonach die organischen Säuren nicht bei der Zucker**bildung** im Assimilationsprozeß, sondern im Zucker**abbau** bei der Atmung entstehen sollten. Hinsichtlich des Chemismus ihrer Bildung gingen auch hier die Ansichten wieder weit auseinander.

a) Mit Recht wurde eine allzu einfache, den Besonderheiten der biologischen Zuckerverbrennung in keiner Weise Rechnung tragende Annahme abgelehnt, wonach die Oxalsäurebildung einfach einem durch Sauerstoffmangel verursachten Stehenbleiben der Zuckerverbrennung auf deren vorletzter Stufe, vergleichbar dem Verkohlen von Holz oder anderen organischen Stoffen, gleichkäme. Nachdem sich aber die biologische Zuckeroxydation als ein kompliziertes System von Spal-

tungen und darauf folgenden Oxydationen ausgewiesen hatte, war der oben erwähnten Theorie der Boden entzogen. Wenn daher Warburg die organischen Säuren allgemein als Produkte einer unvollkommenen Oxydation bezeichnete, so ist die Vorsicht in der Formulierung zwar zu loben, aber Klarheit kam damit keineswegs in diese Frage.

b) Offensichtlich von Anschauungen Pfeffers stark beeinflußt, machte sich im Anschluß an eine Arbeit Wehmers über die Säurebildung durch Pilze eine andere Theorie der Säurebildung breit, die methodisch insofern einen Rückschritt bedeutete, als sie die Ursache der Säurebildung nicht in bestimmten Stoffwechselvorgängen, sondern in schwer kontrollierbaren inneren Bedingungen der Pflanzenzelle suchte. Dieser Ansicht zufolge sollten vor allem frei werdende Basen eine die Säurebildung direkt induzierende Wirkung auf das Plasma ausüben. Eine experimentelle Stütze dieser Annahme sah man besonders in einer vermehrten Säureanhäufung in Pilzkulturen nach Zusatz von Basen. Dabei war man sich wohl bewußt, daß dieser Befund ebenso als Folge einer stärkeren Säurebildung wie auch als diejenige einer vollkommeneren Erhaltung der Säure, d. h. als verminderter Säureabbau, gedeutet werden konnte. Trotzdem ging man über diese Kardinalfrage mit völliger Indifferenz hinweg, begnügte sich vielmehr mit der Feststellung derjenigen Bedingungen, die eine stärkste Säureanhäufung zuließen, um dann unlogischerweise Schlüsse auf die Bildung der Säure zu ziehen. Wenn aber, wie wir anzunehmen Grund genug haben, der Säureabbau in alkalischen und neutralen Medien gegenüber demjenigen bei schwach saurer Reaktion stark gehemmt ist, so ist die Basenwirkung auf die Abbauintensität der Säure beschränkt und steht in keinerlei ursächlichem Zusammenhang mit der Säurebildung. Träfe aber die Ansicht Pfeffers über die Basenreizwirkung bei der Säurebildung zu, so müßte man erwarten, daß das Ausmaß der Säurebildung der Basenkonzentration proportional wäre und daß der Vorgang mit dem Verschwinden freier Basen sistiert würde. Aber keines von beiden trifft zu: Trotz eines auffallend geringen Gehalts an Basen produzieren manche Orchideen große Mengen freier Säuren, und in den sogenannten Säurepflanzen überschreitet die Säurebildung die Erreichung des Neutralpunkts ganz erheblich. (Oxalis tetraphylla ph 1,22.) Der bekannte Brotschimmelpilz Penicillium gedeiht auf alkalischen Kulturmedien, ohne auch nur annähernd soviel Säure anzuhäufen wie ein anderer

Schimmelpilz Aspergillus niger in sauren Lösungen. Später ist versucht worden, auch die Säurebildung in höheren Pflanzen mit der Basenreizwirkung zu erklären, ohne zwingende Beweisgründe dafür zu erbringen. Eine Sonderstellung unter den säurereichen Pflanzen nehmen die dickblättrigen, fleischigen Sukkulenten aus der Familie der Krassulazeen insofern ein, als sie einen stark ausgeprägten tagesperiodischen Rhythmus in ihrem Säuregehalt aufweisen. Der Ausschlag dieser Säureschwankungen war so erheblich, daß diese in den langsam wachsenden Pflanzen kaum mit anderen als mit Zuckerumsetzungen in ursächlichem Zusammenhang stehen konnten. Daß diese sich im Rahmen der Atmung vollzogen, war eine recht naheliegende Annahme. Dagegen mußte — wie schon aus der oben zitierten Warburgschen Definition hervorgeht — die Frage der Stellung dieser Säuren im Atmungsprozeß offenbleiben. Zum Schaden für eine fortschreitende Einsicht in diese Zusammenhänge hat man später, und zwar ohne experimentell erhärteten Grund, die Äpfelsäure der Krassulazeen und dann immer allgemeiner die organischen Säuren überhaupt als normale Zwischenprodukte der Zuckerveratmung charakterisiert. Gegen diese mehr und mehr zu allgemeiner Annahme gelangte Theorie hat sich neuerdings besonders scharf Kostytschew gewandt. Besonders schwerwiegend in seiner Argumentation scheint uns der Hinweis darauf, daß es sich bei den intermediären Atmungsprodukten doch nur um äußerst labile, rasch weiter zerfallende Körper etwa vom Typus der Brenztraubensäure oder des Azetaldehyds handeln könne. Die Existenz und Wirkungsweise der karboxylatischen Fermente und ihre Beteiligung an der Zuckerveratmung machen es zwar wahrscheinlich, daß es intermediäre Atmungsprodukte säureartigen Charakters gibt. Aber bisher ist eine Wirkung von Karboxylasen nur auf α-Ketosäuren in stärkerem Ausmaß beobachtet worden. Wohl glaubte Stähelin in Blättern verschiedener Pflanzen ein Ferment nachgewiesen zu haben, das Oxalsäure äußerst rasch zerstört. Aber wir werden an anderer Stelle den Nachweis führen, daß die Ergebnisse Stähelins in keiner Weise haltbar sind. Es ist uns vielmehr aus Versuchen mit höheren Pflanzen kein Fall bekannt, wonach Oxalsäure mit erheblicher Geschwindigkeit abgebaut worden wäre. Versuche über die relative Abbaugeschwindigkeit der Oxalsäure durch Pflanzen sind vom Verfasser bereits in Angriff genommen worden.

Etwas anders liegen die Dinge bei der Äpfelsäure der oben er-

wähnten Krassulazeen, die ja unter dem Einfluß von Licht und hoher Temperatur rasch zu einem großen Teil aus den Pflanzen zu verschwinden scheint. Aber die Frage, ob der Zuckerabbau in diesen Pflanzen immer über die Stufe der Äpfelsäure führt, diese also für diesen Fall ein normales Intermediärprodukt der Atmung ist, oder ob sie nur unter bestimmten inneren Bedingungen der Pflanze entsteht und ein stabilisiertes Nebenprodukt der Atmung darstellt, ist noch nicht entschieden. Immerhin dürfte die Entstehung der Äpfelsäure in den sukkulenten Krassulazeen eine Sonderstellung unter den Säurebildungsprozessen in Pflanzen einnehmen. Die Besonderheit kommt jedoch nicht der Äpfelsäure als solcher zu, denn wir kennen auch Äpfelsäure führende Pflanzen ohne tägliche Säureschwankungen, vielmehr werden gewisse physiologische Eigentümlichkeiten der Krassulazeen, wobei wir vor allem an die Fermentgarnitur dieser Pflanzen denken, dafür verantwortlich sein.

Gewisse Besonderheiten in der Art des Zuckerabbaues scheinen auch unter der Wirkung bestimmter äußerer Bedingungen bei dem schon einmal erwähnten Schimmelpilz Aspergillus niger vorzuliegen. Unter gewissen Versuchsbedingungen vermag dieser Pilz nämlich den Zucker ohne vorhergehende Spaltung direkt zu oxydieren, wie aus dem Auftreten einer Hexonsäure hervorgeht. Aber dieses ist nicht der einzig mögliche Weg, auf dem dieser Pilz den Zucker zu verbrennen vermag, denn unter andersartigen Versuchsbedingungen erzeugt er große Mengen von Zitronensäure und Oxalsäure, und auch die totale Verbrennung des Zuckers zu Kohlensäure und Wasser ist dem Pilz möglich. Ja selbst unter identischen äußeren Bedingungen verhalten sich einzelne Kulturen bezüglich des Zuckerabbaus recht verschieden, woraus man die Existenz verschiedener physiologischer Rassen postulierte. Eine Übertragung der Besonderheiten dieses Pilzes beim Zuckerabbau auf die grünen Pflanzen müssen wir dagegen streng ablehnen. Auch die geringe Gärfähigkeit dieser Pilze vermag an dieser Stellungnahme nichts zu ändern, da diese Fähigkeit, wie wir aus Versuchen Meyerhofs wissen, selbst bei einander verwandtschaftlich sehr nahestehenden Heferassen äußerst variabel ist und daher eine Übertragung auf andere Organismen nicht gestattet. Vielmehr werden wir in diesen Schimmelpilzen Organismen mit extrem hoher Oxydationsfähigkeit, wie in der Hefe solche mit außerordentlich gesteigerter Spaltungs- und Reduktionsfähigkeit, sehen müssen. Die jeweils in den Pilzkulturen entstehenden Säuren dürfen nicht als intermediäre

Atmungsprodukte betrachtet werden, sondern stellen die den jeweils herrschenden Bedingungen entsprechenden Endprodukte des Zuckerstoffwechsels dar. So verschieden im einzelnen auch die dargelegten Ansichten über die Bildung der organischen Säuren sind, so schneiden sie sich doch alle in dem einen Punkt, daß sie die Säuren vom Zucker ableiten. Wenn wir auch zugeben, daß die Richtigkeit dieser Annahme für Zuckerkulturen von Aspergillus niger als erwiesen, für die sukkulenten Krassulazeen als wahrscheinlich gelten kann, so fehlt doch jeder Beweis dafür, daß diese Säuren normale Zwischenprodukte der Zuckerveratmung sind und daß sie in der Unzahl der übrigen säurehaltigen Pflanzen aus derselben Substanz und in der gleichen Weise entstehen. So hoch oxydierte C-atomarme Stoffe, wie es Oxal- und Äpfelsäure sind, können vielmehr aus differentem Material und auf recht verschiedenem Weg entstehen. So weist der chemische Bau mancher Pflanzensäuren fast zwingend auf häufig und reichlich in Pflanzen vorkommende Aminosäuren und Amide hin. Äpfel- und Bernsteinsäure z. B. zeigen nahe chemische Verwandtschaft zum Kohlenstoffskelett von Asparagin und Asparaginsäure. Daher ist bereits vor 50 Jahren auf die Desaminierung von Aminosäuren und Amiden als einen möglicherweise Säure liefernden Prozeß hingewiesen worden. In neuester Zeit hat Kostytschew diesen Gedanken wieder aufgenommen und sich entschieden und vielleicht etwas zu allgemein gegen die alte Auffassung über den stofflichen Zusammenhang von Zuckerabbau und Säurebildung gewandt. Tatsächlich lassen sich zur Stützung dieser

3. Desaminierungstheorie eine Reihe ernstlicher Argumente anführen:

Schon Wehmer hatte die im Vergleich zu Zuckerkulturen erhöhte Oxalsäureproduktion von Aspergillus auf Pepton beobachtet, und Butkewitsch glückte der Nachweis, daß in solchen Kulturen die Menge des aus α-Aminosäuren abgespalteten Ammoniaks zu der produzierten Säuremenge im Verhältnis der Molekulargewichte steht. Wird durch Zusatz von kohlensaurem Kalk zu den Kulturen die Desaminierung unterbunden, so hört gleichzeitig auch die Säurebildung auf. Leider fehlt der Gegenversuch der Intensivierung der Desaminierung und der Erfolg der damit erzielten Säureanhäufung. Immerhin zeigt schon der erste Versuch mit aller Evidenz, daß eine Verschiebung der Reaktion der Kulturflüssigkeit nach der alkalischen Seite hin in diesem Fall die Säurebildung nicht, wie Pfeffer meint, vermehrt, sondern sie

vielmehr gleichzeitig mit der Desaminierung abstoppt. Man kann sich diese Zusammenhänge kaum anders deuten, als daß Ammoniak und Säure in ein und demselben Prozeß entstehen, wodurch das konstante Verhältnis von Ammoniak : Säure eine ungezwungene Erklärung fände. Über den Chemismus der Desaminierung sind wir durch Untersuchungen an Hefe und Schimmelpilzen unterrichtet. Danach entsteht als erstes Desaminierungsprodukt bei der Hefe eine Ketosäure, bei den Schimmelpilzen gleich die stabilisierte Oxysäure. Nach welchem Modus sich die Desaminierung in höheren Pflanzen vollzieht, ist nicht sicher bekannt, läßt sich aber aus dem Bau der nebeneinander am reichlichsten vorkommenden Aminosäuren bzw. Amide und organischen stickstofffreien Säuren bestimmen. Literaturangaben über den Chemismus der Desaminierung in höheren Pflanzen sind recht spärlich. Immerhin konnte in Keimlingen bei erfolgender Desaminierung von Asparagin Äpfelsäure in steigendem Maß erfaßt werden, während umgekehrt die Fütterung von äpfelsaurem Ammon die Asparaginsynthese auffällig beschleunigte. Auch bei höheren Pflanzen scheinen somit Beziehungen zwischen Aminosäuren und stickstofffreien organischen Säuren zu bestehen. Allerdings liegen die Zusammenhänge insofern noch nicht klar, als der Mannigfaltigkeit der bei der Eiweißhydrolyse entstehenden Aminosäuren und Amide durchaus nicht eine gleiche der nachweisbaren stickstofffreien Säuren entspricht. Vielmehr treten häufig nur eine oder wenige Säuren in ein und derselben Pflanze in größerer Menge auf. Ob diese Uniformierung im Kohlenstoffskelett bereits an den Aminosäuren selbst oder erst an deren ersten Desaminierungsprodukten vollzogen wird, darüber wissen wir leider gar nichts. Daß beispielsweise die oft in großen Mengen auftretende Oxalsäure kein primäres Desaminierungsprodukt ist, dürfte bei dem Fehlen größerer Mengen von Alanin und Glykokoll in Pflanzen feststehen. Sie muß vielmehr ein Derivat C-atomreicherer Säuren sein. Über den Bau dieser Vorstufen der Oxalsäure wissen wir ebenfalls nichts Bestimmtes. Kostytschew vermutet, daß es sich hierbei wahrscheinlich um den Azetaldehyd handeln werde, der ja auch als intermediäres Atmungsprodukt eine wichtige Rolle spielt. Aber auch diese naheliegende Annahme stößt noch auf erhebliche Schwierigkeiten. Wohl wird Azetaldehyd auch biologisch leicht in Essigsäure übergeführt, aber die Umwandlung dieser Säure in Oxalsäure scheint uns nach unseren heutigen Kenntnissen über die biologische Oxydation noch recht rätsel-

haft. Auch bliebe noch zu erklären, warum der Azetaldehyd im Atmungsprozeß nicht ebenfalls in Oxalsäure umgewandelt würde. Wahrscheinlicher will uns die Annahme erscheinen, daß die Vorstufe der Oxalsäure eine Säure vom Typus der Glyoxyl- oder der Mesoxalsäure ist, das sind Säuren, die neben der Karbonyl- bzw. Aldehyd- und der Karboxylgruppe nur oxydierte C-Atome besitzen. Schmalfuß und Barthmeyer weisen in diesem Zusammenhang auf die in Glaucium gefundene Dioxymaleinsäure hin, von der sie die übrigen in dieser Pflanze vorkommenden Säuren abzuleiten versuchen. Das angegebene Schema der Säureumwandlungen wird indes den Chemiker mehr als den Physiologen befriedigen, da es noch erhebliche Unstimmigkeiten, wie die Gleichsetzung der Karboxylasenwirkung auf Keto-, Oxy- und Fettsäuren, enthält. Über diese Frage wird Verfasser an anderer Stelle eingehender berichten.

Es liegen jedoch auch eine ganze Anzahl von Versuchen vor, wonach eine besonders kräftige Ansäuerung in rasch wachsenden Organen zu beobachten war. Diese Erscheinung wurde von mehreren Forschern in ursächlichen Zusammenhang mit der Eiweißsynthese gebracht. Die von älteren Autoren, wie Palladin und A. Meyer, geäußerten Ansichten über die Zusammenhänge dieser Koinzidenz lassen sich allerdings nicht aufrechterhalten. Da eine Säurebildung im Zusammenhang mit der Kondensation der Aminosäuren bei der Eiweißbildung wenig Wahrscheinlichkeit für sich hat, lenkte sich das Hauptaugenmerk auf die Bildung der Aminosäuren. Leider sind wir biochemisch über diesen Vorgang nur recht unvollkommen unterrichtet. Daß die Kohlenhydrate das Kohlenstoffskelett der Aminosäuren liefern, dürfte allerdings ziemlich sicher sein, aber wie die Vereinigung des Ammoniaks mit den Kohlehydraten oder deren Abkömmlingen erfolgt, ist eine noch recht umstrittene Frage. Experimentell ist die Bildung von Aminosäuren aus entsprechenden Keto- bzw. Oxysäuren und Ammoniak im tierischen Organismus festgestellt worden, während in vitro die wichtigeren der in Pflanzen vorkommenden Aminosäuren mittels der sog. Streckerschen Synthese dargestellt werden konnten, was eine Beteiligung von Aldehyden an der Aminosäuresynthese wahrscheinlich machen könnte, sofern es erlaubt ist, die Reagenzglasversuche in Beziehung mit den biochemischen Prozessen zu bringen. Die Entbehrlichkeit des Lichts bei der Aminosäurebildung läßt vermuten, daß das Kohlenstoffskelett der Eiweißbausteine im

dissimilatorischen Zuckerstoffwechsel entsteht, wobei die Frage allerdings zunächst offenbleiben muß, ob dieser Prozeß der Bildung des C-Skeletts der Aminosäuren ein physiologisch selbständiger Vorgang oder aber mit dem normalen Atmungsstoffwechsel, in dessen Ablauf ja höchstwahrscheinlich sowohl Ketosäuren wie Aldehyde auftreten, in Beziehung steht. Stickstofffreie organische Säuren könnten innerhalb dieser Stoffbildungssphäre auf doppelte Weise entstehen:

1. Durch Überwiegen der gebildeten Ketosäuren über die zur Verfügung stehenden Ammoniakmengen und Stabilisierung der überschüssigen Ketosäuren zu den betreffenden Oxysäuren. Diese Ansicht vertritt neuerdings Kostytschew auf Grund von stoffwechselphysiologischen Pilzuntersuchungen. Seine Ergebnisse sind jedoch noch zu wenig eindeutig und zum Teil sogar widersprechend, um die erwähnte Theorie vollgültig zu stützen.

2. Möglicherweise wird durch Herausnahme der Ketosäuren aus dem System der normalen intermediären Atmungsprodukte der weitere Ablauf der chemischen Umwandlungen der im System verbleibenden Restkörper der Kohlehydrate so verändert, daß an Stelle von Kohlensäure und Wasser eben organische Säuren entstehen.

3. Eine dritte Möglichkeit der Säurebildung ist im Verlauf der Nitratreduktion durch Zucker gegeben, wenn auch die von Warburg festgestellte „Extrakohlensäure", die in diesem Prozeß entsteht, mindestens eine teilweise vollständige Zuckerverbrennung hierbei sicherstellt.

Aus dieser kurzen Erörterung über die Bildungsmöglichkeiten von organischen Säuren mag erhellen, wie mannigfaltig diese sind. In Anbetracht der einfachen Konstitution der gerade am häufigsten auftretenden Oxal- und Äpfelsäure darf die Frage nach der Entstehung dieser Säuren nicht dahin verallgemeinert werden, ob diese Körper mit dem Zucker- oder dem Eiweißstoffwechsel ursächlich zusammenhängen, vielmehr ist sicher bei verschieden organisierten Pflanzen bald die eine, bald die andere Beziehung gegeben. Dasselbe gilt in bezug auf die Beschränkung der Säurebildung auf den einen oder andern Teilprozeß im Eiweißstoffwechsel. Die Aufgabe des Pflanzenphysiologen wird es vielmehr sein, für jeden einzelnen physiologischen Typ die Zusammenhänge zu klären und den Anteil der betreffenden Prozesse an der gesamten Säurebildung festzustellen.

Aus methodischen Gründen haben wir zunächst die Typen ausgewählt, die ihre Säure nach einem einheitlichen Prinzip aufbauen oder bei denen dieser Typ doch stark vorherrscht. Dabei haben wir es

uns zur besonderen Aufgabe gemacht, den Wechselbeziehungen im Stickstoff- und Säurestoffwechsel nachzuspüren.

Experimenteller Teil

Mit Hilfe der im hiesigen Institut üblichen Methoden zur Bestimmung der physiologisch wichtigsten stickstoffhaltigen Substanzen und nach Ausarbeitung neuer Methoden zur getrennten quantitativen Bestimmung der am häufigsten vorkommenden Pflanzensäuren konnten Stickstoff- und Säurestoffwechsel der Pflanzen gleichzeitig untersucht und damit erstmals die Frage der Säurebildung im Eiweißstoffwechsel bei höheren Pflanzen mit chemisch einwandfreien Methoden in Angriff genommen werden. Wenn wir uns zunächst unter Zurückstellung der Frage der Säurebildung im Zuckerstoffwechsel, auf die Untersuchung der Wechselbeziehungen zwischen Eiweiß- und Säurestoffwechsel beschränkten, so geschah das, weil wir einerseits schon aus rein theoretischen Überlegungen heraus das Bestehen solcher Beziehungen für sehr wahrscheinlich halten mußten, und weil andererseits über den Stickstoffwechsel der Säurepflanzen kaum etwas bekannt war.

Wenn wir im folgenden eine sehr gedrängte, nur aufs Wesentlichste beschränkte Darstellung unserer Versuchsresultate geben, müssen wir uns vorbehalten, in einer späteren ausführlichen Darlegung die vielseitigen Beziehungen zwischen Stickstoff- und Säurestoffwechsel eingehender zu schildern.

Als Vertreter einer oxalsäurereichen Pflanzengruppe untersuchten wir einige Begoniaarten, besonders eingehend Begonia semperflorens.

Dabei ergaben gleich die ersten Versuche ein recht auffallendes Bild vom Stickstoff-Stoffwechsel dieser Pflanzen, das seine prägnanntesten Züge in einer gegenüber Nichtsäurepflanzen ganz erheblichen Steigerung des Ammoniakgehalts einerseits, in dem so gut wie völligen Fehlen der Amide andererseits trug. Während in Nichtsäurepflanzen der Ammoniakgehalt gänzlich hinter den an Aminosäuren und Amiden zurücktritt und nur wenige Prozent von den Mengen dieser Körper ausmacht, erreicht er besonders nach warmen Tagen in Begonia semperflorens nicht selten die Höhe aller übrigen löslichen stickstoffhaltigen Substanzen zusammen. In stickstoffreichen Wasserkulturen, und zwar sowohl in Nitrat- wie in Ammonsalzlösungen übertrifft der Ammoniakgehalt den

der Aminosäuren besonders in älteren, raschwüchsigen Kulturen um ein ganz Beträchtliches. Eine weitere Steigerung des Ammoniakgehalts in diesen Pflanzen kann durch eine länger anhaltende Verdunklung bei hoher Temperatur erzwungen werden. Hierbei wird mit fortschreitendem Kohlehydratmangel das Eiweiß in steigendem Maß hydrolisiert, wonach die entstehenden Aminosäuren in weitem Umfang desaminiert werden. Im Gegensatz zu Nichtsäurepflanzen wird aber der dabei sich bildende Ammoniak nicht sekundär zu Amiden synthetisiert, sondern in Form des Ammonsalzes „entgiftet". Diese Ergebnisse weisen auf eine außerordentliche Fähigkeit einmal der Reduktion von Nitraten, die rasch und weit über den sofortigen Bedarf hinaus zu Ammoniak reduziert werden und dann auch auf eine ungewöhnliche Desaminierungsfähigkeit hin. Diesen positiven Charakterzügen des Eiweißstoffwechsels der Säurepflanzen steht als ein negativer die stark verminderte Amidbildung gegenüber.

Die Desaminierung geht jedoch bei fortdauernder Verdunklung nicht unvermindert weiter, sondern wird infolge einer durch den kräftigen Säureabbau bedingten Azidität sverminderung mehr und mehr abgebremst. So war in einer Verdunklungsserie der Begonie der Ammoniakgehalt in den ersten 48 Stunden auf den dreifachen Betrag von dem der Aminosäuren angestiegen, während er nach 106stündiger Verdunklung unter weiterem absoluten Anstieg doch nur mehr das Doppelte von dem der Aminosäuren betrug, d. h. die Intensität der Desaminierung war im Verhältnis zur Eiweißhydrolyse mit der experimentell festgestellten Aziditätsverminderung zurückgegangen. Hierin zeigt somit die Begonie bezüglich ihres Stickstoffwechsels eine ganz auffallende Ähnlichkeit mit Aspergillus niger auf Peptonkulturen, wo ebenfalls mit absinkender Azidität Desaminierung und Säurebildung stark zurückgingen. Säurereiche und säurearme Pflanzen stehen bezüglich ihres Stickstoff-Stoffwechsels in einem ähnlichen Verhältnis zueinander wie der kräftige Säurebildner Aspergillus niger zu Penicillium glaucum, dem eine äußerst bescheidene Fähigkeit zur Säureproduktion eigen ist.

Die Säurepflanzen sind bezüglich der Art, wie sie überschüssigen Ammoniak aufspeichern („entgiften"), typische Ammonpflanzen, d. h. sie legen den überschüssigen Ammoniak als organisches Ammonsalz fest. Die den Nichtsäurepflanzen eigene sekundäre Amidsynthese unterbleibt so gut wie völlig. Nur in den schwach sauren Teilen der Pflanze können Amide in größeren Mengen auftreten.

Die hohe Azidität des Zellsaftes scheint somit der Bildung oder Erhaltung der Amide äußerst ungünstig zu sein. In Übereinstimmung damit finden wir als charakteristische Speicherungsform des Ammoniaks in Nichtsäurepflanzen die Amide von Aminosäuren, wie ja auch im tierischen Organismus der Ammoniak als Harnstoff (Diamid der Kohlensäure), unschädlich gemacht und ausgeschieden wird. Daß das besondere Verhalten der Säurepflanzen in der Ammoniakspeicherung mit einem relativen Mangel an Kohlenhydraten und der hohen Azidität ihrer Zellsäfte zusammenhängt, kann heute nur vermutet, nicht bewiesen werden. Welches die letzten Ursachen dieser Besonderheit auch sein mögen, so ist mit ihr doch auf alle Fälle eine Charakterisierung der Säurepflanzen als typische Ammonpflanzen gegenüber den Amidtypen der Nichtsäurepflanzen gegeben.

Eingehende Untersuchungen haben nun ergeben, daß der Ammoniakgehalt der Säurepflanzen, stark von Außenbedingungen beeinflußt, tageszeitlichen Schwankungen unterliegt, die in verschieden alten Blättern allerdings bezüglich ihrer Größe wie auch ihrer ursächlichen Bedingtheit stark differieren.

Tagesschwankungen im Ammoniakgehalt der Blätter von Begonia semperflorens

In abgeschnittenen jungen Blättern findet nachts eine kräftige Desaminierung statt, so daß in ihnen unter gleichzeitigem Ammoniakanstieg der Gehalt an Aminosäuren morgens bis zu 50% niedriger ist als der Abendwert. Bleibt jedoch die Verbindung mit dem Sproß und den alten Blättern bestehen, so steigt in den jungen Blättern der Gehalt an Aminosäuren nach dem Morgen zu um etwa 37%, was auf eine Zuleitung von Aminosäuren aus alten Blättern schließen läßt. Dementsprechend nimmt der Aminosäuregehalt in alten mit der Pflanze in Verbindung stehenden Blättern auch um 33% ab, wohingegen er bei Verhinderung der Ableitung um 200% ansteigt. Dagegen nimmt der Gehalt an Ammoniak in allen Blättern, sofern die Verbindung mit der Pflanze gewahrt bleibt, vom Abend nach dem Morgen hin ab. Diese Erscheinung beruht jedoch in alten und jungen Blättern auf ganz verschiedenen Ursachen: während nämlich der Ammoniak in jungen Blättern zur Eiweißsynthese Verwendung findet, wandert er aus alten Blättern aus. Aber auch die in die jungen Blätter eingewanderten Aminosäuren werden dort zum Teil zur Eiweißsynthese verwendet. Aus den Ergebnissen

später zu beschreibender Versuche wie auch aus Literaturangaben aber ist ersichtlich, daß die zugewanderten Aminosäuren nicht einfach wieder säureamidartig zu Eiweiß verkettet werden, sondern erst einem Abbau bis zum Ammoniak anheimfallen. Der Prozeß der Eiweißbildung ist daher stets von Aminosäurensynthesen begleitet, und sofern nicht erhebliche Mengen von Ammonsalzen vorhanden sind, wird auch eine entsprechende Desaminierung der Eiweißbildung vorangehen müssen. Die Berücksichtigung dieser Zusammenhänge ist für die richtige Beurteilung der im folgenden zu schildernden Beziehungen zwischen Stickstoff- und Säurestoffwechsel bei der Begonie von Wichtigkeit. Auch der Säurestoffwechsel der Begonie zeigt nämlich einen bestimmten tageszeitlichen Rhythmus:

Regelmäßig findet sich in allen Blättern morgens mehr Säure als abends, und zwar betrifft die Zunahme in der Hauptsache die freie Säure. Es kann sich dabei also nicht um eine Zuwanderung aus andern Organen handeln, wie übrigens auch aus den Versuchen mit abgeschnittenen Blättern mit voller Deutlichkeit hervorgeht. Die Säure ist vielmehr an Ort und Stelle entstanden. Dabei entspricht der stärkeren Eiweißsynthese in jungen Organen auch eine vermehrte Säurezunahme. Das tritt besonders klar in kühlen, auf heiße Tage folgenden Nächten in Erscheinung. Hierbei wurden im Zusammenhang mit einer weitgehenden Verminderung des löslichen Stickstoffs in jungen Blättern Zunahmen an freier Säure bis zu 80% gefunden, während gleichzeitig die Säure in alten Blättern nur um 7% ihres freien Anteils gestiegen war. Um keinen falschen Eindruck über das Ausmaß der täglichen Schwankungen im Gesamtsäuregehalt bei der hauptsächlich Oxalsäure führenden Begonie zu erwecken, muß jedoch bemerkt werden, daß der Gehalt an freier Säure hier nur wenige Prozente von der Gesamtsäure ausmacht, deren gebundener Anteil kaum faßbare tagesperiodische Schwankungen aufweist. Diese lassen sich daher, was das Ausmaß anbetrifft, in keiner Weise mit denen in sukkulenten Krassulazeen vergleichen.

Noch überzeugender müssen die Zusammenhänge zwischen Stickstoff- und Säurestoffwechsel in Kulturen mit verschiedenem Gehalt auch qualitativ differierender stickstoffhaltiger Salze zum Ausdruck kommen.

Begonia semperflorens erwies sich für die Ausführung derartiger Versuche als besonders geeignete Pflanze, da sie sowohl in Lösungen mit Nitrat wie in solchen mit Ammonsalzen ausgezeichnet wuchs und auch den völligen Stickstoffmangel der Nährlösung mehrere

Monate lang, wenn auch unter scharfer Reduktion ihres vegetativen Wuchses, ertrug. Während bei den Stickstoffhungerkulturen das Wachstum auf die Ausbildung langer fädiger Wurzeln und magerer Blättchen beschränkt blieb, entwickelten die Ammon- und besonders die Nitratkulturen eine Erntemasse, die das anfängliche Gewicht der Stecklinge um das etwa Vierfache übertraf.

Dementsprechend war auch der Stickstoffgehalt der verschieden gezogenen Pflanzen quantitativ und qualitativ ein sehr ungleicher:

In den Ammonkulturen war der Ammoniakgehalt der Blätter auf 18% des Totalstickstoffs angestiegen, wobei allerdings der größere Teil als gespeichertes Ammonsulfat vorliegen mochte. Aber auch die Nitratpflanzen hatten ihren Ammoniakgehalt auf 7½% des Gesamtstickstoffs erhöht, das ist etwa das Doppelte vom Ammoniakgehalt normal gewachsener Freilandpflanzen, während der Ammoniak der Stickstoffhungerkulturen bis auf geringe Spuren zurückgegangen war. Dagegen traten in den Nitrat- und Ammonsalzkulturen die Aminosäuren stark zurück, während in den stickstofffrei gezogenen Kulturen ein in Anbetracht des Mangels an Eiweiß (¼ des Normalgehalts) überraschend hoher Aminosäurengehalt sich vorfand. Trotz eines abnorm gesteigerten Kohlehydratgehalts vermochten diese Pflanzen aus den Aminosäuren kein weiteres Eiweiß mehr aufzubauen, da infolge einer nur langsam verlaufenden Desaminierung das zur Eiweißsynthese notwendige Primärprodukt nur in äußerst bescheidenen Mengen zur Verfügung stand.

Steht nun der Säurebildungsprozeß bei der Begonie in stofflichem Zusammenhang mit dem Stickstoff-Stoffwechsel, so müssen sich die in verschiedenen Nährlösungen gezogenen Pflanzen in ihrem Säuregehalt in ähnlicher Weise wie im Gehalt an assimiliertem Stickstoff unterscheiden. Die Analysen gaben eine volle Bestätigung dieser Schlußfolgerung unserer eingangs geäußerten Theorie der Säurebildung: Die eiweißreichen Nitrat- und Ammonkulturen wiesen mit 21,3 bzw. 18,6% Oxalsäure (bezogen auf Trockengewicht) die höchsten Säurewerte auf, gegen die derjenige der Stickstoffhungerkulturen mit nur 7% augenfällig abfiel. Und das experimentum crucis: in stickstoffhaltige Nährlösung gebracht, steigerten diese Pflanzen ihren Säuregehalt parallel mit dem an Eiweiß. Schon nach 7 Tagen war der Säuregehalt um 33% und nach 4 Wochen um das 2½fache des Anfangswertes gestiegen und hatte damit nahezu den Stand normaler Pflanzen erreicht. Säure- und Eiweißbildung gehen

also durchaus konform. In welchem Teilprozeß der Eiweißbildung die Säure entsteht, läßt sich aus diesen Versuchen nicht mit Sicherheit angeben. Immerhin läßt sich vermuten, daß bei dem Überfluß an Ammoniak in den Ammonsalz- und Nitratkulturen Desaminierungen stark zurücktreten werden. Man möchte daher in diesen Fällen eher vermuten, daß die Säure bei der Bildung der Eiweißbausteine aus Ammoniak und Kohlehydraten aus den stickstofffreien Resten der letzteren entsteht. Der Säureüberschuß in Nitratpflanzen gegenüber den Ammonkulturen, dem keine Eiweißprävalenz entspricht, läßt die schon oben erörterte Möglichkeit der Säurebildung bei der Nitratreduktion offen, wenn dieser höhere Oxalsäuregehalt nicht die Folge eines durch die geringere Wasserstoffionenkonzentration der Nitratpflanzen (ph 1,86 gegen 1,56 bei den Pflanzen der Ammonsalzkultur) bedingten verminderten Säureabbaus ist. Keineswegs aber liegt hier eine einfache Basenwirkung im Sinne Wehmers oder Pfeffers vor, denn Ammonsalz- und stickstofffreie Kulturen zeigten die erwähnten auffälligen Säureunterschiede, obwohl die Pflanzen beider Kulturen denselben ph aufwiesen.

Aber auch die andere Ansicht, wonach die organischen Säuren als intermediäre Atmungsprodukte aufzufassen wären, findet in unsern Versuchsergebnissen keine Stütze, denn obwohl sich die stickstofffrei gezogenen Pflanzen durch einen höheren Kohlehydratgehalt und damit in Zusammenhang durch vermehrte Atmungsintensität auszeichneten, blieb ihr Säuregehalt doch bedeutend hinter demjenigen der Nitratpflanzen zurück (7% gegen 21,3%).

Die Versuche an Begonia semperflorens erwiesen somit recht überzeugend, daß die Oxalsäurebildung bei dieser Pflanze weder mit dem Basengehalt bzw. der Wasserstoffionenkonzentration des Zellsafts noch mit dem Zuckerumsatz in ursächlichen Zusammenhang zu bringen ist, wohingegen die Tagesschwankungen im Säuregehalt wie auch die Kulturversuche eine nicht zu übersehende Beziehung des Säurestoffwechsels zum Stickstoff-Stoffwechsel, und zwar näherhin zur Eiweißbildung aufdeckten. In welchem Teilprozeß der letzteren die Säure entsteht, bleibt eine offene Frage. Die meiste Wahrscheinlichkeit spricht für eine Entstehung der Säure aus dem Kohlehydratrest bei der Aminosäurebildung.

Wesentlich einfacher und durchsichtiger liegen die Beziehungen zwischen Säurebildung und Desaminierung. Auch bietet die quantitative Erfassung dieser beiden Prozesse wenig Schwierig-

keiten, sofern diese Prozesse nur mit der nötigen Intensität verlaufen und nicht durch die gegensinnigen Vorgänge des Eiweißaufbaus bzw. des Säureabbaus verdeckt werden. Aus der Biochemie der Eiweißmobilisierung bei der Samenkeimung sind uns derartig intensive Desaminierungsprozesse erstmals bekanntgeworden. Der dabei entstehende Ammoniak wird allerdings sekundär in Amide übergeführt. Trifft die bei Begonia semperflorens erstmals beobachtete Prävalenz des Ammoniaks über die Amide allgemein bei Säurepflanzen zu, so konnte man bei der Keimung der Samen von Säurepflanzen oder beim Austreiben vegetativer Reservestoffbehälter dieser Pflanzen Ammoniak- und Säurebildung erwarten, die ein Paradigma für die ursächlichen Zusammenhänge dieser beiden Prozesse abgeben konnten. Im Rhizom des Rhabarbers fanden wir ein wegen seiner leichten Antreibbarkeit und bequemen Beschaffungsmöglichkeit äußerst günstiges Versuchsmaterial.

Ist in der Tat die Desaminierung zugleich der Entstehungsprozeß von organischen stabilen Säuren, so mußte — sollte diese Theorie eine bedeutungsvolle Stützung erfahren — zu beweisen sein, daß

1. Ammoniak- und Säurebildung einander parallel gehen, also zeitlich zusammenfallen;
2. die gebildeten Ammoniakmengen auch quantitativ ausreichen, um daraus die gefundene Säure als stickstofffreien Rest der desaminierten Aminosäuren zu charakterisieren.

Der Stickstoff-Stoffwechsel beim Rhabarber

Wir beschränken uns in der Darstellung unter Auslassung vieler an sich interessanter Einzelheiten nur auf die Beschreibung der Besonderheiten, die für das Verständnis der Beziehungen zwischen Säure- und Stickstoff-Stoffwechsel von Bedeutung sind.

Das Rhizom. Die Mittelstücke der ruhenden Rhizome enthalten etwa ⅔ ihres Gesamtstickstoffs in Form von löslichen Stickstoffverbindungen und nur ⅓ als Eiweiß. Innerhalb der löslichen Stickstoffverbindungen herrschen die Aminosäuren stark vor, neben denen nur noch Amide eine gewisse Rolle spielen, während der Ammoniak völlig zurücktritt. Entsprechend unserer schon oben geäußerten Ansicht treten auch beim Rhabarber Amide nur in den schwach sauren Organen (Rhizom und Leitbündel) auf. Gegen die Keimknospe hin tritt der „lösliche Stickstoff" stark zugunsten des Eiweißstickstoffs zurück. Beim Austreiben vermindert sich der Gehalt an

Aminosäuren und Amiden zunächst weitaus am stärksten. Man wird daher annehmen dürfen, daß der Stickstoff in dieser Form aus dem Rhizom auswandert und den Blättern zugeführt wird. In den jüngsten Stielen der noch völlig von der bekannten roten Hülle umschlossenen Blätter verschwinden indes die Aminosäuren sehr rasch und werden zu Eiweiß synthetisiert. Auf diesem ersten Entwicklungsstadium scheint sich die stärkste Eiweißbildung zu vollziehen, denn bereits ein wenige Zentimeter langer Blattstiel enthält schon etwa 50% der Eiweißmenge eines ausgewachsenen Stiels, was das außerordentlich rasche Wachstum der Rhabarberstiele verständlich macht. Auf gleiches Frischgewicht bezogen, enthält der ausgewachsene Blattstiel nur mehr $^1/_{15}$ vom Eiweißgehalt eines ganz jungen Stiels, während der Gehalt an „löslichem Stickstoff" nur auf die Hälfte im Lauf der Entwicklung absinkt.

Mit beginnender Blattentfaltung verschwinden die Amide für immer aus dem Speichergewebe des Blattstiels, der Ammoniak steigt zwar etwas an, bleibt aber immer noch weit hinter den Aminosäuren zurück. Im Verlauf der weiteren Stielentwicklung nimmt nun der Gehalt an Aminosäuren unter gleichzeitigem steilen Anstieg der Ammoniakwerte rapide ab, so daß in etwa 15 cm langen Blattstielen an löslichen Stickstoffverbindungen überhaupt nur mehr Ammonsalze vorkommen. Während dieses Entwicklungsstadiums müssen sich somit Desaminierungsprozesse von bisher ungeahnter Intensität abgespielt haben. Die aus den Rhizomen ausgewanderten Aminosäuren werden sofort restlos desaminiert. Erst später finden sich in den Blattstielen wieder aufs neue Aminosäuren, die aber, wie sich aus ihrer Verteilung schließen läßt, nicht aus dem Rhizom, sondern aus der Blattspreite stammen.

In der Blattspreite spielen sich in der Hauptsache Eiweißbildungsprozesse ab. Auf den ersten Stufen der Entwicklung sind diese so kräftig, daß sie sogar die Zufuhr von Aminosäuren aus dem Rhizom übertreffen.

Während diese Befunde die Blattstiele als ausgesprochene Desaminierungsorgane charakterisieren, müssen die Blattspreiten als typische Eiweißbildner angesprochen werden. Es liegt somit beim Rhabarber eine derartig ausgeprägte Lokalisierung physiologischer Prozesse vor, daß man versucht ist, Blatt und Blattstiel bezüglich des Stickstoff-Stoffwechsels als selbständige Organe mit eigener Funktion aufzufassen.

Bei Kohlehydratmangel, wie er in den bei verminderter Beleuchtung und hoher Temperatur angetriebenen Kulturen und da wieder besonders auffällig in den zu Ende eines Antriebs produzierten Stielen und Blättern häufig zu konstatieren ist, gestalten sich die Verhältnisse noch extremer: schon junge Stiele zeigen nur mehr ⅓, ausgewachsene Stiele sogar nur noch ⅕ des Eiweißgehalts gleich alter Stiele von Freilandpflanzen. Dafür ist auf allen Entwicklungsstufen der Stiele der Ammoniakgehalt ein bedeutend höherer. In alternden Stielen erreicht er sogar die enorme Höhe von 75% des Gesamtstickstoffs, wobei die Aminosäuren fast völlig verschwinden. Infolge dieser unerhörten Ammoniakanreicherung fällt die Wasserstoffionenkonzentration ganz erheblich (p_h etwa 5,8). Ein Bild von der Bedeutung dieser Ammoniakspeicherung kann man sich machen, wenn man hört, daß das gebildete Ammonsalz nicht weniger als 33% vom Trockengewicht des Stieles ausmachte.

Finden sich nun — entsprechend der Desaminierungstheorie — auch mit dem Ammoniakgehalt übereinstimmende Säuremengen in den Rhabarberstielen?

Der Säurestoffwechsel

An Säuren finden sich im Rhabarber hauptsächlich Äpfel- und Oxalsäure, daneben geringe Mengen von Bernsteinsäure, während Milchsäure und andere flüchtige Säuren nur in Spuren auftreten. Da der Bernsteinsäuregehalt während der ganzen Entwicklung der Pflanzen ein im Verhältnis zu dem der Oxal- und Äpfelsäure sehr geringer blieb, beschränken wir zunächst unsere Angaben auf diese beiden wichtigsten Säuren im Rhabarber.

Das ruhende Rhizom enthält neben 0,90% Oxalsäure etwa 0,73% Äpfelsäure (je auf Frischgewicht berechnet). Beim Austreiben findet eine starke Auswanderung von Salzen dieser Säuren statt, die offensichtlich den Basenbedarf der rasch wachsenden Stiele und Blätter decken müssen. Die auf diese Weise in die Stiele einwandernden Säuren reichen jedoch keineswegs hin, um den Gesamtgehalt der Stiele an Säuren zu erklären. Auch stimmt das Verhältnis der aus dem Rhizom ausgewanderten keineswegs mit dem der in den Stielen vorgefundenen Säuren überein. Nimmt man noch dazu den Befund, daß die ausgewanderte Äpfelsäure des Rhizoms und die aus dem Stiel isolierte sich auch hinsichtlich ihres optischen Verhaltens unterscheiden, so deutet das alles zwingend auf eine — wie die entsprechen-

den Analysenwerte zeigen — äußerst kräftige Säurebildung im Blattstiel vom Rhabarber hin. Die überschüssige Säure ist auch nicht etwa — wie Steinmann glauben machen möchte — aus den Blattspreiten zugewandert. Das geht nicht nur aus deren relativer Säurearmut und dem fast völligen Fehlen der bei Säurebildungsprozessen im Rhabarber besonders stark vermehrten optisch aktiven Äpfelsäure, sondern auch aus der Tatsache hervor, daß vollkommen dunkel gezogene Pflanzen, ebenso wie sehr frühzeitig ihrer Blattspreite beraubte Stiele sich von normalen Pflanzen im Säuregehalt nicht merklich unterscheiden.

Das Verhältnis von Äpfel- zu Oxalsäure verändert sich stark im Laufe der Entwicklung der Stiele. In den kleinen noch von der Knospenhülle umschlossenen Blattstielen finden sich neben erheblichen Mengen von Äpfelsäure nur Spuren von Oxalsäure. Diese letztere tritt dagegen ziemlich plötzlich nach Durchbruch der Knospenhülle in größeren Mengen auf, ohne allerdings diejenigen der Äpfelsäure zu erreichen. Im weiteren Verlauf der Entwicklung nehmen beide Säuren zu, wobei sich aber das quantitative Verhältnis mehr und mehr zugunsten der Oxalsäure verschiebt, bis diese in alternden Stielen durchaus dominiert. Da diese Verschiebung nicht allein auf einer Zunahme von Oxalsäure, sondern auch auf einer Abnahme der Äpfelsäure beruht und auffällige Steigerungen der ersteren stets von ebensolchen Senkungen der letzteren begleitet sind, scheint uns die Annahme eines genetischen Zusammenhangs dieser beiden Säuren sehr wohl begründet. Da weiterhin die Umwandlung von Äpfel- in Oxalsäure unter bedeutender positiver Wärmetönung verläuft, scheint der höhere Oxalsäuregehalt kohlehydratarmer Stiele vom energetischen Standpunkt aus sehr verständlich.

Die Blattstiele vom Rhabarber zeichnen sich somit durch eine ebenso enorme Desaminierungs- wie Säureproduktionsfähigkeit vor allen übrigen Organen derselben Pflanze aus. Desaminierung und Säurebildung sind beim Rhabarber also in ein und demselben Organ lokalisiert, was die Möglichkeit eines ursächlichen Zusammenhangs zwischen den beiden Prozessen stark in den Vordergrund treten läßt. Diese Möglichkeit könnte zur Gewißheit erhoben werden, wenn es gelänge, nachzuweisen, daß Ammoniak und Säure im Verhältnis ihrer molaren Konzentrationen zur Abscheidung kommen. Leider muß aber schon im voraus mit einer erheblichen Abweichung von dem idealen Verhältniswert gerechnet werden: Zunächst muß einmal bei dieser Betrachtung die Menge der

zugeleiteten Säure von der Gesamtsäure in Abzug gebracht werden, da natürlich nur die Neubildung der Säure von einer entsprechenden Ammoniakabspaltung begleitet sein kann. Ferner ist die Desaminierung keine völlig einheitliche Erscheinung, da sie sich auf recht verschieden zusammengesetzte Körper erstreckt, und primär abgespaltene C-atomreiche Ketonsäuren sekundär in mehrere Moleküle einfacherer Säuren zerfallen können. So könnten schon aus einem Molekül Apfelsäure zwei Moleküle Oxalsäure entstehen. Endlich kommt bei der Desaminierung von Aminosäuren auf je ein Molekül einer primär abgespaltenen Ketosäure ein Molekül Ammoniak, während bei der Desaminierung von Amiden deren zwei abgespalten werden. Wenn wir dann endlich noch bedenken, daß sowohl Ammoniak wie Säuren nicht in vollem Umfang erhalten bleiben, sondern wieder in den Stoffwechsel mit einbezogen werden können, so wird ohne weiteres klar, daß Ammoniak und Säuren nicht im molaren Mengenverhältnis zueinander stehend erwartet werden können. Wohl aber müssen — soll unsere Ansicht von der Säurebildung bei der Desaminierung zu Recht bestehen — Säure- und Ammoniakanhäufung im Laufe der Stielentwicklung einander parallel gehen. Und das trifft tatsächlich auch durchaus zu. Das Verhältnis Ammoniak: Säure liegt schon von den ersten Stadien der Entwicklung der Stiele ab bis zur Erreichung ihrer endgültigen Größe ganz dicht bei 0,3 (bezogen auf molare Konzentrationen). Daraus geht aber auch zugleich hervor, daß die Desaminierung in den Stielen vom Rhabarber in einem Ausmaß erfolgt, wie es den Mengen der gebildeten Säuren entspricht. In alten kohlehydratarmen Stielen konnten sogar Ammoniakmengen nachgewiesen werden, die imstande waren, 5/6 der vorhandenen Säuren zu binden. Derartig hohe für die Pflanze unbedingt letal wirkende Ammoniakdosen fordern unbedingt eine biologische Entgiftung. Diese ist in der Bindung des Ammoniaks an die organischen Säuren vollzogen, da die Ammoniumsalze besonders in saurer Lösung (Mevius) in schroffem Gegensatz zum freien Ammoniak von der Pflanze sehr gut ertragen werden. Die Gefahr einer derartigen Vergiftung ist aber automatisch behoben, wenn Ammoniak und Säuren in ein und demselben Prozeß entstehen, wie es bei der Desaminierung ja der Fall zu sein scheint.

Natürlich entstehen im Rhabarberstiel möglicherweise auch bei der Eiweißsynthese organische Säuren. Immerhin tritt die auf diesem Wege gebildete weit hinter die im Desaminierungsprozeß

entstandene Säure zurück, denn die Säurebildung geht beim Rhabarber keineswegs der Eiweißsynthese parallel. Vor allem fehlen die entsprechenden Säuremengen sowohl auf den ersten eiweißreichen Entwicklungsstadien der Stiele ebenso wie in den typischen Eiweißbildnern, den Blättern. Während ferner der Eiweißgehalt der Stiele (bezogen auf Trockengewicht) im Lauf der Entwicklung stark sinkt, steigt der Säuregehalt kräftig an.

Wenn uns auch noch ein tieferer Einblick in die Zusammenhänge zwischen Desaminierung und Säurebildung verwehrt ist, so können wir doch soviel sagen, daß sich als erstes Desaminierungsprodukt im Rhabarber stets nur Äpfelsäure analytisch erfassen ließ, was auf ein vorausgehendes Auftreten von Asparagin- bzw. Glutaminsäure hinzuweisen scheint. Oxalsäure tritt dagegen erst später und meist unter gleichzeitiger Abnahme der Äpfelsäure auf. Wir halten daher die Oxalsäure im Rhabarber nicht für ein primäres Desaminierungsprodukt, worauf auch die Tatsache hindeutet, daß sie in alten Blattstielen trotz geringer Desaminierung immer noch weiter, und zwar auch hier wieder unter gleichzeitigem Schwund von Äpfelsäure, ansteigt.

Während wir beim Rhabarber eine klare Koinzidenz von Ammoniak- und Säurebildung beobachten konnten, fehlt jegliche derartige Beziehung zwischen Säurebildung und Zuckerumsatz, und es möchte fast scheinen, als ob die älteren Autoren einen Zusammenhang zwischen diesen beiden Prozessen für besonders naheliegend nur deshalb ansahen, weil sie keinen der Atmung an Intensität vergleichbaren physiologischen Vorgang kannten und den Stickstoffumsatz in manchen Fällen doch stark unterschätzten.

Ein stofflicher Zusammenhang zwischen Zucker- und Säurestoffwechsel scheint uns für alle diejenigen Pflanzen unwahrscheinlich, in denen der Säuregehalt allein Beziehungen zur Entwicklung der Pflanze zeigt und, wie bei Begonie und Rhabarber, in alten ausgewachsenen Organen keinen erheblichen Schwankungen mehr unterliegt, bis die prämortale Abwanderung mit anderen physiologisch wichtigen Stoffen auch die Salze der organischen Säuren erfaßt.

Über die Ergebnisse weiterer Versuche, die neue Argumente für die Richtigkeit unserer Auffassung bezüglich des Bestehens von Wechselbeziehungen zwischen Säurebildung und Stickstoffumsatz beim Rhabarber beizutragen vermögen, wird demnächst an anderer Stelle berichtet werden.

II.

Entwicklungsphysiologische Untersuchungen aus dem Botanischen Institut der Universität Leipzig

Von W. Ruhland

Jedem Laien ist die Beobachtung geläufig, daß die Bedingungen der Umwelt, also die Eigenschaften des Bodens, sein Gehalt an Nährstoffen, Wasser, Temperatur, Luftfeuchtigkeit, Licht usw. einen bestimmenden Einfluß auf die Gestaltung der Pflanze haben. Der so verschiedene Ausfall der Ernten nach Lage, Boden und Jahr ist ja ein allbekanntes Beispiel dafür. Es ist aber nicht so leicht, zu ermitteln, welche besondere Wirkung auf die Pflanzengestalt in diesem Faktorenkomplex, den wir als „Umwelt" zusammenfassen, jedem einzelnen dieser Entwicklungsbedingungen zuzuschreiben ist. Es bedarf dazu des Experimentes im Laboratorium, welches jedesmal nur einen Faktor variieren darf, die übrigen aber konstant halten muß, um eine eindeutige Schlußfolgerung zu ermöglichen. Diese einzelnen Faktoren sind auch bei wissenschaftlichen, eigens der experimentellen Gestaltungslehre gewidmeten älteren Untersuchungen nicht immer mit der wünschenswerten und (freilich nicht ganz einfach) erreichbaren Exaktheit getrennt worden, so daß z. B. häufig hohe Feuchtigkeit und geringes Licht, Trockenheit und starkes Licht, hohe Bodenfeuchtigkeit und dampfgesättigte Luft, Unterschiede in der Qualität des Lichtes mit solchen der Quantität miteinander vermengt worden sind.

K. Förster[1]) unternahm es deshalb, eine möglichst scharfe Trennung der in der Natur häufig verbundenen Faktoren durchzuführen und die Wirkung jedes einzelnen von ihnen an einem experimentell leicht zu behandelnden Objekt, dem weitverbreiteten Lebermoos Marchantia, genau zu studieren. Die Brutknospen der Pflanze wurden unter den verschiedenen, sorgfältig gestellten Bedingungen

---

[1]) „Die Wirkung äußerer Faktoren auf Entwicklung und Gestaltbildung von Marchantia polymorpha." (Planta V, 1927, 325—390.)

auf einer und derselben Nährlösung zum Austreiben gebracht und die sich entwickelnden Pflänzchen schließlich auf ihr Gewicht, die gröberen Gestaltungsverhältnisse (Länge, Breite, die sog. Flügelentwicklung, d. h. die Ausbildung der grünen Fläche beiderseits der Mittelrippe), gewisse Bildungsabweichungen, wie die Entstehung von Adventivsprossen usw., sowie endlich die innere Differenzierung der Pflanzen untersucht.

Niedere Temperatur verlangsamte das Wachstum, förderte jedoch die Flügelentwicklung, so daß solche Kältepflanzen relativ breit aussehen wie Lichtpflanzen. Jedoch wird z. B. bei 11° C die innere Differenzierung (Ausbildung der Atemhöhlen) verzögert.

Was das Licht anbelangt, so nimmt bei Ansteigen desselben die Länge der Pflanzen zu, ganz abweichend von dem gewöhnlichen Verhalten höherer Pflanzen, bei denen das Licht die Längenausdehnung hemmt, um erst bei sehr starkem Licht, z. B. bei Dauerbeleuchtung mit über 2000 Meterkerzen, wieder abzusinken. Die Flügelentwicklung steigt mit wachsender Beleuchtungsstärke dauernd an. Pflanzen aus schwachem Licht sind also kurz und schmal, aus mittlerem Licht lang und normal breit, aus sehr starkem Licht kurz und abnorm breit. Im Dunkeln wird das Wachstum eingestellt. Es findet also die von höheren Pflanzen bekannte Vergeilung (Etiolement) nicht statt. Was die innere Differenzierung anbelangt, so sei nur kurz angedeutet, daß die Ausgestaltung der Atemhöhlen weitgehend durch das Licht bestimmt wird.

Wenn man nun, statt mit gewöhnlichem weißem, mit dessen einzelnen Bestandteilen, also farbigem Licht, arbeitet, so zeigt sich, daß es in der Reihenfolge: Rot, Blau, Grün wie zunehmende Dunkelheit wirkt. Im Grün wurden fast gar keine Atemhöhlen gebildet, im Blau unterblieb die Ausbildung von Assimilationszellen in ihnen, im Rot waren sie normal gebaut. Auch die Chlorophyllkörner zeigten je nach der Lichtfarbe verschiedene Gestalt und Anordnung. Es ist wohl möglich, daß die verschiedene Wirkung dieser Lichtqualitäten, die durch monochromatische Lichtfilter erzeugt und in gleichen Intensitäten miteinander verglichen wurden, eng mit der assimilatorischen Wirkung zusammenhängt, die eine gleichartige Abstufung erkennen läßt[1]).

Mittlerer (d. h. nicht maximaler) Wassergehalt im Substrat

[1]) Der Einfluß von Lichtqualität und -quantität auf diese Pflanze konnte etwas später mit verbesserten Lichtfiltern im hiesigen Institut noch genauer verfolgt werden. (Planta V, 1928, 510—518.)

ist für das Gesamtwachstum (Gewicht) am günstigsten, auch für die Längenentwicklung, doch wird die Flügelentwicklung durch zunehmende Trockenheit, ähnlich wie durch zunehmendes Licht, gefördert. Im gleichen Sinne wie der Wassergehalt des Substrats wirkt der der Luft, ihre Wirkungen addieren sich, so daß z. B. feuchte Luft und trockenes Substrat merkwürdigerweise ähnliche Gestalten ergeben wie trockene Luft und feuchtes Substrat. Die Transpiration (Wasserdampfabgabe der Pflanzen) kann also hier für die Gestaltbildung nicht ausschlaggebend sein.

Die zunehmende Konzentration der Nährlösung wirkt wie zunehmende Substrattrockenheit, und zwar ließ sich zeigen, daß diese Wirkung durch den zunehmenden osmotischen Wert der Nährlösung verursacht wird, der die Wasseraufnahme durch die Pflänzchen immer mehr erschwert.

Licht, Kälte, Trockenheit, Konzentration der Nährstoffe wirken also bei Zunahme gleichsinnig auf die äußere Entwicklung der Länge und auf die Flügelausbildung, für die innere Ausgestaltung ist aber das Licht allein bestimmend, während Kälte nur stark verzögernd wirkt. Bei extremer Wirkung der Faktoren, d. h. tiefer Temperatur, sehr intensivem Licht, großer Trockenheit von Luft und Boden und auf sehr konzentrierter Nährlösung treten Bildungsabweichungen auf, insbesondere Adventivsprosse. Es würde zu weit führen, diese Versuchsergebnisse schließlich noch mit den bisherigen Erfahrungen an höheren Pflanzen zu vergleichen, die sich leider nicht so leicht für solche Fragen verwenden lassen.

II.

Unter den verschiedenen, in der Försterschen Arbeit untersuchten Entwicklungsfaktoren schien es wertvoll und interessant, das Licht, das als Energiequelle bei der Assimilation und als Reiz bei den verschiedensten Lebensvorgängen der Pflanze wohl an erster Stelle steht, für eingehendere Studien herauszugreifen und insbesondere den Einfluß seiner einzelnen Bestandteile auf Gestalt und Funktion der Pflanze noch genauer zu prüfen.

J. Stephan[1]) übernahm es, hier den Anfang zu machen, indem er die wenigen von früher her vorliegenden Arbeiten, insbesondere

[1]) **„Untersuchungen über die Lichtwirkung bestimmter Spektralbezirke und bekannter Strahlungsintensitäten auf die Keimung und das Wachstum einiger Farne und Moose." (Planta V, 1928, 381—443.)**

von Klebs, über die Wirkung der verschiedenen Lichtfarben auf die Keimung und das Wachstum einiger experimentell leicht zu behandelnder Farne und Moose zu vertiefen strebte. Hierbei kam es (außer auf Gleichmäßigkeit der übrigen Entwicklungsfaktoren, wie Temperatur, Feuchtigkeit usw.) besonders auf die Verwendung möglichst reinen (monochromatischen) Lichtes und eine genaue Dosierung seiner Intensität an.

Schon weil das Licht gleichzeitig und untrennbar sich so verschiedenartig äußert, wie bei der Assimilation und als Reiz, woran die einzelnen Spektralbezirke wieder höchst ungleich beteiligt sind (Assimilation besonders im Rot, Reizwirkung am größten im Blau), müssen offenbar die einzelnen Lebensäußerungen und Organteile, die an der Entwicklung der ganzen Pflanze teilnehmen, vielfach auch auf jede Lichtfarbe verschiedenartig reagieren und auf Veränderungen der Intensität sogar entgegengesetzt antworten können. Man wird deshalb keine einfachen, leicht definierbaren Wirkungen des „Lichtes", noch dazu auf etwas so Komplexes, wie es die „Gestalt" der ganzen Pflanze ist, erwarten können. Hier sollen nur einige einfachere und allgemeinere Ergebnisse mitgeteilt werden.

Es zeigte sich, daß bei den untersuchten Pflanzen für die Formbildung die Qualität (also Farbe) des Lichtes das Ausschlaggebende war, während in intensitätsgleichem, qualitativ aber verschiedenem Licht niemals gleiche Formen zustande kamen, wenn wir etwa vom Blau absehen, das bei einem Farn (Balantium) keine qualitätsspezifische Wirkung hatte. Die Formen aus Blau waren denen aus Weiß, von der geringeren Größe abgesehen, gleich. Sonst besteht aber nicht einmal die Beziehung, daß etwa hohe Intensität der einen wie niedere der anderen Qualität wirken kann. Andererseits ist innerhalb jeder einzelnen Qualität natürlich die Intensität von großer Bedeutung, die dann meist das besondere Ausmaß von Länge, Breite usw. bestimmt.

Auf die verschiedenen untersuchten Pflanzenarten wirkte nur das Rot überall in gleicher Richtung, anders aber die übrigen Farben, deren Wirkungsweise, besonders im Grün, sogar ja nach dem Objekt entgegengesetzt gerichtet sein kann. Besonders sei noch das Ultrarot erwähnt, welches das Auge bekanntlich als völlige Dunkelheit empfindet, während es auf die Versuchspflanzen noch Wirkungen ausübte, die es von wirklicher Dunkelheit unterscheidet (Stärkebildung, spezifische Gestaltsbeeinflussung).

Sehr interessant gestalteten sich auch Versuche mit Wechselbeleuchtung, d. h. Versuche, die so eingerichtet waren, daß die Pflanzen in regelmäßigem, automatisch bewirktem Wechsel in verschieden langen, bei einer Versuchsserie aber gleichen Intervallen durch Licht verschiedener Farben bestrahlt wurde. Nachdem sich gezeigt hatte, daß in keiner anderen Farbe normale Pflanzen zu erzielen gewesen waren, wie sie im gewöhnlichen weißen Licht, d. h. also bei simultaner Wirkung aller Farben, entstehen, ergab sich bei dieser Versuchsanstellung, daß solche normale Entwicklung auch durch sukzessive, in nicht zu langen Abschnitten erfolgende Summierung der farbigen Bestandteile des weißen Lichtes, und zwar merkwürdigerweise sogar bei insgesamt geringerer Lichtmenge als bei weißem Licht, erzielt werden konnten.

Leider lassen sich die mancherlei grundsätzlich wichtigen Fragen, die durch diese Untersuchungen eine besondere Beleuchtung und Förderung erfuhren, hier in der gebotenen Kürze nicht wiedergeben.

III.

Pflanzenphysiologische Arbeiten über den Eiweiß- und Alkaloid-Stoffwechsel

Von K. Mothes

Die Versuche botanischer Forschung, mit exakten und modernen Methoden der Chemie und Physik in das Geheimnis pflanzlicher Lebensvorgänge einzudringen und die kausalen Zusammenhänge, die sie untereinander und mit ihrer Umgebung verbinden, aufzudecken, haben in den letzten Jahrzehnten große Erfolge erzielt und auch andere Disziplinen fruchtbar beeinflußt, so vor allem Landwirtschaft und Gartenbau, aber auch die Verwandtschaftsforschung griff nach chemischen Methoden, und die Pharmakognosie begann, sich aus dem Zustand einer nur beschreibenden Wissenschaft herauszuentwickeln. Doch muß man bekennen, daß die Forschung immer an der Stelle haltzumachen gezwungen war, wo man einen Einblick in die Wirkungsweise und die Bedeutung des „lebenden Substrates" bei wichtigen Lebensprozessen zu gewinnen suchte. Schon die Verwendung dieses Begriffes in der modernen physiologischen Literatur zeigt uns, daß er weniger der Vermittlung neuer Erkenntnis als der Verhüllung alter Rätsel dient. So stellt er sich in zahlreichen Arbeiten gerade dort ein, wo man die entscheidende Klarheit erwartet.

Wohl haben der Physik und der physikalischen Chemie entlehnte Methoden uns ein Bild von der Struktur dieses Substrates entworfen. Aber diese Erkenntnis brachte zugleich die Gewißheit, daß gerade durch die Besonderheit kolloidaler Struktur eine solche Fülle von Reaktionsmöglichkeiten gegeben ist, daß wir in wichtigen Entscheidungen sehr vorsichtig sein müssen und es dem Laien erscheinen mag, als wüßten wir heute weniger als ehedem.

Vor allem zeigte es sich, daß der Erweiterung unserer Kenntnisse über die Struktur der Pflanzenzelle auch eine Bereicherung unseres Wissens über die chemischen Eigenschaften des reagierenden Substrates parallel gehen muß, um die Forschung vorwärts zu treiben. Das zeigt in besonderem Maße der Stand der Erforschung des

Eiweißumsatzes. Obwohl wir ahnen, daß die Proteine als wesentliche Bestandteile des Protoplasmas eine hervorragende Rolle beim Ablauf der verschiedensten Lebensvorgänge spielen und z. B. die Serodiagnostik davon ausgeht, daß wegen dieser zentralen Stellung die Proteine jeder Pflanzenart einen für diese charakteristischen chemischen Aufbau besitzen, hat man sich bisher wenig oder mit geringem Erfolg bemüht, unser tatsächliches Wissen um diese grundlegenden Dinge zu vermehren.

Das veranlaßte mich, nachdem ich im Leipziger Botanischen Institut durch eine Untersuchung über die Bedeutung des Asparagins auf solche Probleme gestoßen war, in einigen im Botanischen Institut zu Halle durchgeführten Arbeiten dem Eiweißumsatz in höheren Pflanzen eine größere Beachtung zu schenken. Hatte ich schon früher gezeigt, daß das Altern pflanzlicher Organe, d. h. das Erlahmen der Fähigkeit, wichtige Bau- und Betriebsstoffe zu synthetisieren, begleitet ist von einer Verarmung an Eiweiß in solchen Zellteilen, in denen jene Synthesen lokalisiert erscheinen, so war es nicht schwer, bei künstlichem Proteinentzug, wie er sich durch lange Verdunkelung bewirken ließ, ein vorzeitiges „Altern" auch junger Organe herbeizuführen, wobei die Fähigkeit zur Bildung verschiedenartiger Stoffe verschieden schnell erlischt, z. B. die Chloroplasten wohl noch die Stärkesynthese ermöglichen, aber einem Eiweißschwund nicht mehr entgegenarbeiten können.

Diese Bedeutung des Eiweißgehaltes für den Ablauf des Lebens wurde nun in anderem Zusammenhange erneut klar. Es zeigte sich, daß für die Dürreresistenz pflanzlicher Organe das Vorhandensein von großen Mengen Proteinen von entscheidender Bedeutung ist. Unter Dürreresistenz versteht man die Eigenschaft einer Pflanze oder eines pflanzlichen Organes, Perioden des Wassermangels zu überstehen. Morphologische und physiologische Besonderheiten, die vor allem eine Erschwerung der Wasserabgabe oder eine Erleichterung der Wasseraufnahme herbeiführen, wurden oft an dürreresistenten Pflanzen nachgewiesen. So ist seit langem bekannt, daß in welkenden Blättern eine schnelle Verzuckerung der Stärke einsetzt, wodurch der osmotische Wert des Zellsaftes, d. h. auch seine Fähigkeit, Wasser anzusaugen, vergrößert wird. Ich habe nun eine solche Mobilisation auch bei den Eiweißen nachweisen können, nur mit dem Unterschied, daß die Spaltprodukte, die Aminosäuren, nicht in der Zelle bzw. dem welkenden Blatt verblieben, sondern sie wanderten aus in Organe

mit höherer Saugkraft (das sind im allgemeinen die jüngeren Organe). Nach dem oben Mitgeteilten muß natürlich eine solche Verarmung an Eiweißen in dem Augenblick zu einer ernsten Schädigung führen, wo die vorhandene Eiweißmenge nicht mehr ausreicht, um die an dieses Substrat gebundenen Synthesen (besonders die Proteinbildung selbst) zu unterhalten. Ich beobachtete auch in so geschädigten Blättern selbst nach Aufhebung des Wassermangels zwar des öfteren eine augenblickliche Erholung, die aber nur so lange andauerte, bis die vorhandenen Reservestoffe aufgezehrt waren. Dann aber starben diese Blätter ab. Man nahm bisher im wesentlichen an, daß die Mobilisierung hochmolekularer Stoffe beim Welken (oder beim Erfrieren) deshalb eine sehr zweckmäßige Reaktion sei, weil sie eine Erhöhung der Saugkräfte bewirke. Nun kann ich aber feststellen, daß wenigstens für das Eiweiß von einer solchen Zweckmäßigkeit nicht gesprochen werden kann, daß vielmehr an der Pflanze welkende Blätter des kostbaren Eiweißes beraubt werden, d. h. auch des Stoffes, der infolge seiner leichten Quellbarkeit in besonderem Maße zum Festhalten des Wassers geeignet ist. Da jedoch diese Proteine in andere, jüngere Blätter wandern, erhöhen sie deren Lebensfähigkeit, und wir haben hier ein treffendes Beispiel, wie ein dem einzelnen Organ schädlicher Prozeß, auf den gesamten Organismus bezogen, doch als zweckmäßig (die Ganzheit erhaltend) bezeichnet werden muß. Und es ist nun klar, daß ein möglichst hoher Eiweißgehalt die Dürreresistenz eines Organes bzw. einer ganzen Pflanze erhöht. Er verhindert das schnelle Herabsinken des Proteingehaltes unter eine lebengefährdende Grenze. Der Wasserentzug beeinflußt die Struktur des Substrates, an das die wichtigen Synthesen gebunden sind, verschieden. Schnelles Welken bewirkt eine Veränderung der physikalischen Struktur der kolloidalen Eiweiße, eine irreversible Entquellung. Erneute Wasserzufuhr kann die so zerstörten Systeme nicht regenerieren. Langsames Welken bewirkt aber eine Entfernung des Substrates oder einer seiner wichtigsten Komponenten selbst! Erneute Wasserzufuhr wird auch dieses System nicht regenerieren, weil jene lebenswichtige Substanz mangelt, an deren Vorhandensein ihre eigene Erzeugung gebunden ist.

Diese Beobachtung, die nicht allein für das Problem der Dürreresistenz, sondern für mannigfache andere Erscheinungen (z. B. den sommerlichen Laubfall, das frühzeitige „Altern" von Kulturpflanzen in trockenen Sommern usw.) von Bedeutung ist, zeigt treffend die

zentrale Stellung der Proteine im Lebensprozeß der Organismen. Vielleicht treten bei ihrer Bedeutung als Bildner des physiologischen Substrates ihre kolloidalen Eigenschaften in den Vordergrund. Doch gibt es genügend Hinweise, die uns klar zeigen, daß auch die chemische Struktur der Eiweißkörper für mannigfache Umsetzungen von ausschlaggebender Bedeutung ist. Jedoch sind wir heute noch nicht in der Lage, über die physiologische Bedeutung der spezifischen Struktur eines pflanzlichen Eiweißkörpers etwas Genaues auszusagen. Die Forschung hält sich deshalb an Teilaufgaben.

Eine solche ist die Beschäftigung mit den Spaltkörpern bzw. Bausteinen, den Aminosäuren, von denen das Arginin mich besonders interessierte, weil es eine der wichtigsten ist, und neuere Untersuchungen aus dem Gebiete der animalischen Physiologie auf seine wesentliche Rolle im Stoffwechsel hingewiesen haben. Der Parallelismus zwischen pflanzlichem und tierischem Stoffwechsel, der bei tieferem Eindringen in die Geheimnisse des Lebens immer klarer wird und die Einheit des Organischen deutlicher werden läßt, bedeutet nicht nur einen erfreulichen Fortschritt unserer Erkenntnis großer Zusammenhänge, sondern ist zugleich eine wertvolle Arbeitshypothese, die manche Frucht gezeitigt hat. An anderer Stelle in diesem Hefte wurde gezeigt, daß neuere Untersuchungen den Prozeß der Ammoniakentgiftung im tierischen und pflanzlichen Organismus weit geklärt haben und für viele Pflanzen in den Säureamiden (dem Asparagin und Glutamin) solche Körper gefunden worden sind, die sekundär aus Ammoniak gebildet werden. Diesen Körpern wurde im tierischen Stoffwechsel der Harnstoff (ebenfalls ein Amid) als funktionsgleich gegenübergestellt. — Nun war von großem Interesse, ob das Arginin, das im tierischen Organismus eine ganz andere Rolle spielt, im pflanzlichen unter bestimmten Umständen das Asparagin vertreten könnte, wie das behauptet worden war, weil in den Keimlingen der Koniferen sehr große Mengen dieser Verbindung nachgewiesen werden konnten. Es handelte sich also darum, zu zeigen, ob dieses Arginin sekundär oder primär entsteht, ob es synthetisch aus einfacheren (Eiweißabbauprodukten) oder hydrolytisch aus größeren (Eiweiß-) Molekülen gebildet wird, und zweitens handelte es sich darum, ob bei einer erwiesenen sekundären Entstehung das Arginin aus Ammoniak hervorgeht und ihm die Bedeutung eines Entgifters dieses Stoffes zugesprochen werden könnte. Für eine solche Rolle sprach der Befund, daß innerhalb der Gesamtmenge der bei

der Keimung der Koniferensamen auftretenden Eiweißspaltprodukte das Arginin an Menge in solchem Maße über die anderen Aminosäuren dominierte, daß dieses Verhältnis zunächst nicht auf Grund einer einfachen Spaltung der Proteine erklärt werden konnte; denn relativ genommen ist das Arginin in den Sameneiweißen nicht in solchen Mengen präformiert. Eine genauere Untersuchung an verschiedenen Nadelhölzern erbrachte die überraschende Tatsache, daß diese basische Aminosäure nicht durch sekundäre Neubildung, sondern durch Nichtverbrauch angereichert wurde, und gleichzeitig konnte damit der Beweis geführt werden, daß Samenproteine und Proteine des Keimlings in ihrem chemischen Aufbau wesentliche Unterschiede aufwiesen. Im übrigen zeigte es sich, daß die Koniferen typische Amidpflanzen sind, daß intermediär im Stoffwechsel gebildetes oder von außen zugeführtes Ammoniak durch Asparaginbildung entgiftet wird. Diese Untersuchungen, deren Verlauf und Einzelergebnisse große Ähnlichkeiten mit den an anderer Stelle behandelten Experimenten über die Physiologie der Säureamide haben, besitzen einen besonderen Wert dadurch, daß sie einen neuen Beweis erbrachten, daß die aus einer bestimmten Pflanze zu verschiedenen Entwicklungszeiten oder aus verschiedenen Organen ziemlich leicht herauslösbaren und im Stoffwechsel unschwer mobilisierbaren Reserveproteine eine verschiedene Zusammensetzung haben können und damit auch ganz verschiedene Eigenschaften. Diese Tatsache ist um so wichtiger, als die Geschichte der Serodiagnostik bewiesen hat, daß man sich oft dieser Möglichkeiten nicht genügend bewußt gewesen ist.

Das Arginin interessiert die Physiologie auch deshalb, weil es große chemische Verwandtschaft mit einer ganzen Reihe wichtiger Pflanzenstoffe hat. Dabei denke ich in erster Linie an die Alkaloide, basische stickstoffhaltige Körper, die wegen ihrer auffallenden physiologischen Wirkung auf den menschlichen Organismus große Beachtung gefunden haben. Über die Bedeutung dieser Pflanzenbasen für den Organismus, in dem sie entstehen, wissen wir bisher sehr wenig. Wir besitzen trotz zahlreicher Arbeiten, die sich mit der Entstehung und dem Vorkommen der Alkaloide befassen, nicht eine einzige, die eine der vielen bestehenden Hypothesen glaubhaft beweist. Vielfach zeigen die vorliegenden Arbeiten oft entweder einen großen Mangel an biologischem Denken oder an exakter chemischer Methodik. So veranlaßte das Fehlen objektiver Erkenntnis, die vor allem durch das physiologische Experiment gefördert werden müßte, daß selbst

in neuester Zeit immer wieder von verschiedenen Forschern die alte Ansicht vertreten wurde, daß die Alkaloide Gifte wären, deren Bedeutung in dem Schutz der Pflanze vor Tierfraß usw. läg. Ich will hier nicht erörtern, daß viele Beweise gegen einen solchen „Pflanzenschutz" wenigstens im allgemeinen Sinne sprechen, sondern will nur sagen, daß diese Ansicht keine Erklärung eines physiologischen Vorganges ist. Sie sagt uns nichts über die kausalen Zusammenhänge bei der Bildung dieser Stoffe, sagt auch nichts über ihr ferneres Schicksal. Sie verlegt ihre „Rolle" außerhalb des pflanzlichen Organismus in einen tierischen.

Offenbar steht die Forschung hier vor einem Problem, das zu den schwierigsten der Physiologie gehört; denn der Bau dieser Körper ist sehr kompliziert und verschiedenartig, ihr Vorkommen quantitativ gering, aber vielseitig, und ihr Verhalten im Stoffwechsel der Pflanzen träge und experimenteller Beeinflussung schwer zugänglich. Doch komme ich damit schon zu Ergebnissen meiner Studien am Nikotin, wobei zu bemerken ist, daß bestimmte Erwägungen mich veranlaßten, die Untersuchungen zunächst auf ein wohlbekanntes und relativ einfaches Alkaloid zu beschränken, dafür aber möglichst in die Tiefe zu führen. Die Ergebnisse bringen wohl noch keine Lösungen des allgemeinen Alkaloidproblems; aber sie haben in dem großen Durch- und Gegeneinander der Meinungen einige Klarheit gebracht. Das Bild, das ich nun vom Umsatz des Nikotins gewonnen habe, ist etwa folgendes: dieses Alkaloid wird nur in wachsenden Pflanzenteilen gebildet; Licht ist zu seiner Synthese nicht notwendig, sein Mangel beeinflußt sie nur insofern, als allgemein der Stoffumsatz gehemmt wird. Mit dem Eiweißabbau steht die Nikotinbildung sicher in keinem direkten Zusammenhang. Auch wandert dieses Alkaloid in der Pflanze nicht oder nur geringfügig und unterliegt einem Abbau nur schwer und in unbedeutenden Mengen. Auch wird die Synthese nicht intensiviert durch eine überreichliche Stickstoffernährung. So ist dieser Stoff bestimmt kein Reservematerial für den Eiweißstoffwechsel und auch kein Produkt eines luxuriösen Stickstoff-Stoffwechsels. Aus diesen Beobachtungen ergab sich eine Erklärung, warum von den jüngsten zu den ältesten Blättern der Alkaloidgehalt zunimmt: das im Laufe der Vegetation gebildete Nikotin bleibt an primärer Lagerstätte liegen. Und die Tatsache, daß die untersten, ältesten Blätter oft einen geringeren Nikotingehalt haben als mittlere, wie auch bei den Tragblättern der Seitenzweige beobachtet worden war, erklärte

sich nicht — wie bisher angenommen — aus einem Abbau und einer Auswanderung, sondern vornehmlich aus einer geringeren Synthese, eine Folge des gehemmten Gesamtstoffwechsels in Organen ungünstiger Position.

Damit ist eine feste Grundlage für weitere Untersuchungen gewonnen, die sich bisher vor allem auf die Zusammenhänge von Alkaloidbildung und Eiweißumsatz erstrecken. Neue Experimente an anderen Pflanzen sollen diese Basis erweitern, und es besteht die Hoffnung, wenigstens soweit Einblick in den Stoffwechsel zu erlangen, daß eine künstliche Beeinflussung des Alkaloidgehaltes und eine Höherzüchtung unserer Arzneipflanzen nicht mehr außer dem Bereich der Möglichkeit steht.

IV.

Untersuchungen zur Kohlensäureassimilation und Chlorophyllbildung in der grünen Pflanze

Von Kurt Noack, Erlangen

Einleitung

Unter den chemischen Elementen, deren Assimilierung die grüne Pflanze zum Lebensunterhalt benötigt, nimmt der Kohlenstoff eine besondere Stellung ein. Abgesehen vom Atmungssauerstoff, der ja keine dauernde Bereicherung des Pflanzenkörpers darstellt, ist der Kohlenstoff das einzige Element, das die grüne Pflanze nicht vom Erdboden her, sondern aus der Luft in Form von Kohlensäure aufnimmt, so daß die Kohlenstofffrage wenigstens unmittelbar keine Bodenfrage in sich begreift. Außerdem stellt der Aufbau der unzähligen organischen Verbindungen der Pflanze aus Kohlensäure, d. h. der höchsten Oxydationsstufe des Kohlenstoffs, einen Reduktionsprozeß mit großem Energieaufwand dar, den die Pflanze im Gegensatz zu andern energieverbrauchenden Prozessen nicht mit der Atmungsenergie, sondern mit der Absorption von Strahlungsenergie aus den sichtbaren Spektralanteilen des Sonnenlichts, also mit nicht selbst erzeugter Energie, bestreitet.

Aus dieser Grundtatsache wird sofort verständlich, daß die Photosynthese, wie die Kohlensäureassimilation auch genannt wird, über Farbstoffe führen muß, d. h. über Stoffe, die die sichtbaren Spektralanteile des Sonnenlichts absorbieren und dabei in irgendeiner Weise die Umwandlung der Strahlungsenergie in chemische Energie ermöglichen.

Rein stofflich betrachtet stellt die Kohlensäureassimilation eine rasch ablaufende Reduktion der Kohlensäure zu Kohlehydraten dar gemäß der Gleichung: $6CO_2 + 6H_2O = C_6H_{12}O_6 + 6O_2$, wie sich auf verschiedene Weise zeigen läßt, ohne daß über den Verlauf dieses Vorgangs bis jetzt Klarheit geschaffen worden wäre. Sicher ist jedoch, daß die Photosynthese sich in besonders vorgebildeten Teilen des

Protoplasmas, den Chloroplasten, abspielt, organisierten, meist körnchenartigen, grünen Gebilden, deren Struktur nicht bekannt ist, für die aber mit Sicherheit ein Gehalt an Eiweiß, Lipoiden und vier Farbstoffen als typisch anzusehen ist.

All dieses zeigt, daß an die Erforschung des zentralen Problems der Pflanzenernährung von den verschiedensten Seiten aus herangegangen werden kann, da sich in ihm rein chemische Fragen mit chemisch-physikalischen und biologischen zu einem umfangreichen Arbeitsfeld vereinigen.

Im folgenden mögen einige Ausschnitte aus diesem Forschungsgebiet mitgeteilt werden, die der Verfasser im Lauf der letzten Jahre mit Unterstützung der Notgemeinschaft bearbeitet hat.

I. Der Zustand des Chlorophylls in der lebenden Pflanze

Die Forschungen Willstätters haben die Chloroplastenfarbstoffe unserer Kenntnis weitgehend erschlossen. In jedem normal arbeitenden Chloroplasten finden wir zwei sich chemisch nahestehende Chlorophyllkomponenten a und b, außerdem ein zweites, unter sich verwandtes Stoffpaar, das Karotin und Xanthophyll, deren gelbe Farbe durch das Chlorophyllgrün verdeckt wird. Über die funktionellen Wechselbeziehungen zwischen diesen vier Körpern ist noch nichts bekannt; aber selbst unter der wohlberechtigten Annahme, daß sämtliche vier an der Photosynthese beteiligt sind, kommt der unmittelbare Anteil an diesem Vorgang zunächst dem Chlorophyll zu, wie sich daraus ergibt, daß die Kohlensäureassimilation in den Spektralgebieten am stärksten ist, die vom Chlorophyll vornehmlich absorbiert werden.

Hier erhebt sich nun u. a. die Frage: In welcher Form ist das Chlorophyll im Chloroplasten vorhanden? Mit den bisher angewandten optischen Hilfsmitteln ist es nicht gelungen, irgendwelche für die Photosynthese belangreiche Strukturen im Chloroplasten aufzudecken, obwohl solche angenommen werden müssen. O. Warburg[1]) hat die Photosynthese durch oberflächenaktive Stoffe (Narkotika) weitgehend beeinflussen können und damit klargelegt, daß im Gesamtverlauf des Prozesses eine Oberflächenreaktion enthalten ist. Daraus muß auf eine weitgehende Verteilung des Chlorophylls im Chloroplasten geschlossen werden.

[1]) O. Warburg, Biochemische Zeitschrift 100, 1919, S. 308, und andere Arbeiten.

Schon Willstätter[1]) hat sich mit dem Zustand des Chlorophylls im lebenden Chloroplasten befaßt, fand Übereinstimmung der Blattspektren mit dem einer kolloidalen Chlorophyllösung und folgerte daher, daß die Chloroplasten den Farbstoff in kolloidalem oder einem diesem sehr ähnlichen Zustand führen. Damit ist jedoch die schon vor Willstätter bekannte Tatsache unvereinbar, daß das Chlorophyll im lebenden Blatt rot fluoresziert, eine Eigenschaft, die dem Farbstoff in kolloidaler Lösung nicht zukommt, sondern nur dann, wenn er echt, d. h. molekulardispers gelöst ist. Da nun Chlorophyll nur in organischen Lösungsmitteln fluoresziert, behauptete K. Stern[2]), gestützt auf eigene Versuche, daß der Farbstoff in den Lipoiden des Chloroplasten molekulardispers und daher fluoreszierend gelöst ist. Demgegenüber hielt Willstätter[3]), allerdings ohne die Fluoreszenz zu berücksichtigen, seinen alten Standpunkt mit Entschiedenheit aufrecht und bemerkte, daß sich das Chlorophyll im Chloroplasten nicht frei molekular gelöst, sondern wenigstens der Hauptmenge nach in einem Adsorptionszustand befindet.

Da nun auch die oben erwähnten Versuche von O. Warburg für eine Adsorption des Chlorophylls an Bestandteile des Chloroplasten sprechen, suchte der Verfasser[4]) die Tatsache der Rotfluoreszenz mit der Annahme einer adsorptiven Bindung des Farbstoffs im lebenden Chloroplasten zu vereinen.

Zunächst wurde in Modellversuchen danach gestrebt, an irgendwelche Substrate chemisch reines Chlorophyll in molekularer Verteilung adsorptiv zu binden. Dies gelang am besten mit „Aluminiumhydroxyd C", das von Willstätter[5]) zur Fermentreinigung angegeben worden ist, vorausgesetzt, daß unter Ausschluß von Wasser gearbeitet und das Tonerde-Gel zuvor unter Erhaltung seiner Struktur getrocknet wurde. Dieses nahm beim Schütteln mit einer petrolätherischen Chlorophyllösung den Farbstoff vollständig auf und zeigte auch nach völliger Entfernung des Petroläthers im ultravioletten

---

1) R. Willstätter und A. Stoll, Untersuchungen über das Chlorophyll. Berlin 1913.

2) K. Stern, Zeitschrift für Botanik 13, 1921, S. 193.

3) R. Willstätter, Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft 55, 1922, S. 3601 (Anmerkung auf S. 3604).

4) K. Noack, Biochemische Zeitschrift 183, 1927, S. 135.

5) R. Willstätter und H. Kraut, Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft 56, 1923, S. 1117.

Licht leuchtende Rotfluoreszenz, die noch nach 10 Monaten ihre ursprüngliche Stärke hatte. Wurde dagegen feuchtes Aluminiumhydroxyd mit petrolätherischer Farbstofflösung geschüttelt, so trat wohl völlige Adsorption ein, jedoch ohne Spur einer Rotfluoreszenz. Um so instruktiver war es, daß ein lebhaft fluoreszierendes Adsorbat entstand, wenn eine kolloidale, wäßrige Lösung von Rohchlorophyll, die durch Azetonextraktion von Blättern erhalten wurde, mit Aluminiumhydroxyd geschüttelt wurde. In diesen Rohextrakten befindet sich ein Teil der Blattlipoide, die den Farbstoff in echter, molekulardisperser Lösung aufnehmen und von Aluminiumhydroxyd selbst adsorbiert werden.

Um diese Ergebnisse den Verhältnissen im Blatt anzugleichen, wurde eine Adsorption des Chlorophylls an Eiweißkörper versucht, da diese im Blatt in erster Linie für die Chlorophylladsorption in Frage kommen. Am nächstliegenden war es, solche Versuche mit genuinem Blatteiweiß anzustellen, jedoch konnte damit bisher kein Ergebnis erzielt werden. Eine Anzahl chemisch definierter Eiweißkörper erwies sich ebenfalls als unbrauchbar, bis auf lipoidfrei gemachtes Globin, also den ungefärbten Eiweißkörper des Blutfarbstoffes, an den die Farbstoffkomponente verhältnismäßig locker angelagert ist. Beim Schütteln mit petrolätherischer Chlorophyllösung wurde der Farbstoff zu etwa 90% adsorbiert und zeigte im Adsorbat deutliche Rotfluoreszenz, die allerdings geringer war als bei dem Tonerdeadsorbat.

Dadurch war eine Grundlage geschaffen, um an das Verhalten des Chlorophylls im lebenden Blatt heranzugehen. Da eine Untersuchung des lebenden Chloroplasten zunächst aussichtslos war, mußte eine Methode gefunden werden, um die Chloroplastenmasse in möglichst wenig destruiertem Zustand aus dem Blatt zu isolieren. Dadurch verbot sich die Anwendung organischer Lösungsmittel, die sowohl lipoidlösend als auch eluierend auf den Farbstoff wirken. Jedoch gelang es, mittels Wasserextraktion auf halb mechanischem Weg eine Abtrennung der Chloroplastenmasse zu bewerkstelligen: Frische Blätter beliebiger Pflanzen wurden unter Kalziumkarbonatzusatz fein zerrieben und nach Aufnehmen in Wasser einer fraktionierten Zentrifugierung unterworfen. Bei kurzem Vorzentrifugieren mit hoher Tourenzahl setzten sich zunächst Zellwandbruchstücke, Kristalle usw. ab; die überstehende Flüssigkeit war dunkelgrün und auffallend durchsichtig, wenn auch opaleszent, und konnte ohne Farbstoffverlust sogar durch Hart-

filter, nicht jedoch durch die „feinen“ Membranfilter nach Zsigmondy filtriert werden. Nach längerem scharfen Zentrifugieren setzte sich ein dunkelgrünes, schmieriges Sediment ab, das mit Ölimmersion untersucht nur feinste, grüne, in farbloser Flüssigkeit suspendierte Teilchen zeigte, die weit kleiner als Chloroplasten waren. Trotz der Konsistenz dieses Sediments ließ es sich bei kurzem Schütteln mit Wasser in klare, grüne Lösung bringen, die im sichtbaren Licht starkes Tyndallphänomen zeigte und im ultravioletten Licht stark rot fluoreszierte. Besondere Untersuchung zeigte, daß die chemische Konstitution des Chlorophylls bei dieser Behandlung völlig gewahrt blieb.

Für die Verwendung dieser im wesentlichen aus zerstörten Chloroplasten bestehenden Masse zur Untersuchung auf den Chlorophyllzustand im lebenden Blatt war nun folgender Gedanke maßgebend. Wenn das Chlorophyll tatsächlich an das Chloroplasteneiweiß in monomolekularer, also fluoreszierender, Schicht gemäß den obigen Modellbefunden adsorbiert ist, so kann Eiweißdenaturierung durch Erhitzen Fluoreszenzvernichtung durch Übergang des Farbstoffs in kolloidale, wäßrige Lösung zur Folge haben. Jedoch war die Gegenwart der Lipoide zu beachten, in denen sich das Chlorophyll nachträglich, und zwar beschleunigt durch die Hitze, molekulardispers, d. h. unter Wiederauftreten der Fluoreszenz, lösen könnte. Um daher die zur Eiweißdenaturierung nötige Erhitzung möglichst abzukürzen, wurden die Sedimentlösungen in dünnwandige Kapillaren eingeschlossen und zunächst verschieden lange Zeit in kochendes Wasser gestellt.

Während der Inhalt nicht erhitzter Kapillaren im ultravioletten Lichtkegel einer Sammellinse leuchtende Rotfluoreszenz zeigte, wurde durch 1—30 Sekunden lange Erhitzung auf 100° die Fluoreszenz völlig oder nahezu völlig vernichtet, trat jedoch bei längerer Erhitzung wieder auf, um nach 3—4 Minuten die ursprüngliche Stärke wiederzuerreichen. Da durch besondere Versuche die Möglichkeit optischer Störungen ausgeschlossen werden konnte, muß aus dem Befund der Schluß gezogen werden, daß das Chlorophyll in der Sedimentmasse in monomolekularer Schicht an Eiweiß adsorbiert vorlag, bei kurzer Erhitzung infolge Denaturierung des Adsorbens in den kolloidalen, nicht fluoreszierenden Zustand überging, um sich bei längerem Erhitzen in den vorhandenen Lipoiden sekundär in molekulardispersen, fluoreszierenden Zustand aufzulösen.

Beide Vorgänge konnten durch folgende Versuche noch weiter beleuchtet werden:

1. Eiweißdenaturierung als Ursache des Fluoreszenzverlustes. Die bei 30 Sekunden langer Erhitzung zur Fluoreszenzvernichtung nötige Minimaltemperatur fällt mit der für Eiweißdenaturierung nötigen Minimaltemperatur zusammen. Im Intervall von 100—75° wurde die Fluoreszenz völlig vernichtet, während bei 70° schwache Fluoreszenz erhalten blieb und bei 65° keine Schwächung mehr erfolgte. Umgekehrt blieb die Fluoreszenz erhalten, wenn an Stelle der Hitzedenaturierung des Eiweißes dessen Ausflockung durch Bleiazetat oder Ammonsulfat vorgenommen wurde, d. h. durch Mittel, die Eiweiß wohl aussalzen, jedoch nur langsam denaturieren. Erst nachträgliche kurze Erhitzung auf z. B. 100° vernichtete auch hier die Fluoreszenz.

2. Sekundäre Auflösung des Chlorophylls in den Blattlipoiden. Beim Ausschütteln der wäßrigen Sedimentlösungen mit Äther gingen der gesamte Farbstoff und Lipoide in diesen über. Der durch Abdampfen des Äthers gewonnene dunkelgrüne, fettige Rückstand zeigte starke Fluoreszenz und verlor diese nicht bei kurzem Erhitzen auf 100°. Durch Verseifung konnte der Rückstand von Chlorophyll befreit werden, wobei eine farblose, fettige Masse hinterblieb, die mit chemisch reinem Chlorophyll beladen werden konnte und nun wiederum hitzebeständige Rotfluoreszenz aufwies.

Andrerseits wurde bei Stehenlassen der Sedimente, namentlich bei höherer Temperatur (45°), die Fluoreszenz bei kurzem Erhitzen nicht mehr vernichtet, so daß also ein allmähliches Übergehen des Chlorophylls von der Eiweißgrenzschicht in die Lipoide anzunehmen ist.

Vorübergehender Verlust der Rotfluoreszenz ließ sich auch beim Erhitzen mikroskopischer Blattquerschnitte in den Chloroplasten selbst beobachten. Dabei war bemerkenswert, daß bei manchen Blättern nach längerem Erhitzen am Epidermisaußenrand ein stark rot fluoreszierender Saum auftrat, d. h. an der Stelle, an der sich wachsartige Stoffe befinden. Andrerseits trat in Blattschnitten keine Fluoreszenzvernichtung auf, wenn die Schnitte vor der Erhitzung mit 70%igem Methylalkohol behandelt wurden, der eine Vermischung der Blattlipoide mit dem Chlorophyll zur Folge hatte.

So kann wohl der übrigens kürzlich von Stern[1]) anerkannte Schluß als berechtigt gelten, daß im Gegensatz zu dessen früherer An-

[1]) K. Stern, Referat über die oben zitierte Arbeit des Verfassers in Zeitschrift für Botanik 20, 1927, S. 137.

sicht von der lipoiden Auflösung des Chlorophylls in den Chloroplasten und in Übereinstimmung mit der Meinung Willstätters der Farbstoff im Chloroplasten an Eiweiß adsorbiert oder sonstwie an dieses locker gebunden ist. Die Fluoreszenz dieses Adsorbats spricht dafür, daß der Farbstoff dabei in monomolekularer Schicht ausgebreitet ist, wie dies auch schon bei andern Farbstoffadsorptionen beobachtet wurde.

Über die Natur des Adsorbens kann nur soviel ausgesagt werden, daß dieser Eiweißkörper, nach seinem Verhalten gegen Ammonsulfat zu schließen, den Globulinen nahesteht.

Durch diesen Befund wird die Tatsache des außerordentlichen Stoffumsatzes bei der Photosynthese erklärt, da nun jedes einzelne Chlorophyllmolekül im Grundsatz als zugänglich für die zu verarbeitende Kohlensäure betrachtet werden kann. Außerdem ist damit ein Anhaltspunkt für die Erforschung der Chloroplastenstruktur gegeben, die in Anbetracht der Vielheit der Bestandteile noch viele Rätsel birgt. Was die beiden Karotinfarbstoffe des Chloroplasten betrifft, so dürften sie in dessen Lipoiden gelöst sein. Hierfür spricht die Möglichkeit, diese Farbstoffe aus trockenen Blättern mit Lipoidsolventien (Petroläther) frei von Chlorophyll herauszulösen.

Die Isolierung der Chloroplastenmasse unter Erhaltung des ursprünglichen Chlorophyllzustands legte die Frage nahe, ob diese außerhalb des Pflanzenkörpers zur normalen Kohlensäureverarbeitung befähigt ist. Schon öfters ist über erfolgreiche Versuche in dieser Hinsicht an künstlichen Modellen unter Chlorophyllmitwirkung berichtet worden; jedoch haben sich die Ergebnisse immer als unrichtig erwiesen.

Zur Prüfung unter den vorliegenden Verhältnissen wurde frische Chloroplastenmasse auf Glasplatten ausgestrichen und bei Lichtgegenwart im Luftstrom auf Kohlensäureaufnahme und Sauerstoffabgabe mittels genauer Methodik untersucht. Wohl fand eine geringe Kohlensäureaufnahme statt, jedoch keine Sauerstoffabgabe, so daß also auch mit diesem Modell, das von allen bis jetzt untersuchten den Verhältnissen in der lebenden Pflanze noch am nächsten steht, kein Anhaltspunkt für die Möglichkeit der Photosynthese in destruierten Chloroplasten gegeben ist. (Noch nicht veröffentlichte Versuche.)

II. Photochemische Untersuchungen zur Kohlensäureassimilation

Die Fluoreszenz des Chlorophylls in den lebenden Chloroplasten gab dem Verfasser den Anlaß, die Photosynthese in Beziehung zu setzen zu Erscheinungen, die ganz allgemein bei fluoreszierenden organischen Farbstoffen beobachtet werden.

Tappeiner[1]) bemerkte, daß derartige Farbstoffe, wie z. B. Eosin, bei Belichtung tödliche Wirkung auf das Protoplasma besitzen, und zwar in kleinsten Konzentrationen, die im Dunkeln von denselben Versuchsobjekten ohne weiteres ertragen werden. Der Verfasser zeigte 1920[2]), daß diese Giftwirkung auf die photochemische Bildung peroxydischen Sauerstoffs zurückzuführen ist. Wurden z. B. die hochempfindlichen Paramäzien in Gegenwart von dem reduzierend wirkenden neutralen Natriumsulfit der Eosinwirkung im Licht ausgesetzt, so blieben sie stundenlang am Leben, während die sulfitfreien Kontrollen nach wenigen Sekunden abgestorben waren. Andrerseits konnte die Eosinwirkung durch Mangansalze als Sauerstoffüberträger wesentlich beschleunigt werden. Ferner wies der Verfasser 1925[3]) nach, daß dem Chlorophyll im lebenden Blatt dieselbe photooxydative Wirkung zukommt insofern, als die photochemische Energie des Chlorophylls immer dann, wenn sie nicht zur Reduktion der Kohlensäure als ihres normalen Akzeptors verwandt werden kann, in Form photooxydativer Energie auf Protoplasma und Chloroplastenfarbstoffe übertragen wird und Abtötung wie auch Farbstoffausbleichung zur Folge hat. Die Art der künstlich herbeigeführten Assimilationshemmung war dabei belanglos: Kohlensäureentzug, Narkotisierung oder Vergiftung des Assimilationsapparats hatte denselben Erfolg. Der Photooxydationscharakter der gesetzten Schädigung ließ sich u. a. dadurch beweisen, daß die Ausbleichgeschwindigkeit des Chlorophylls in linearer Proportion zur vorhandenen Sauerstoffmenge stand, die dabei verbraucht wurde, wobei die Sauerstoffavidität des belichteten Chlorophylls so stark war, daß dem umgebenden Medium die letzten Spuren des Sauerstoffs entzogen wurden. Außerdem blieben durch Kochen abgetötete Blätter in Gegenwart reduzierend wirkenden neutralen Natriumsulfits auch in

[1]) **H. v. Tappeiner, unter anderem: Deutsches Archiv für klinische Medizin 80, 1904, S. 427.**

[2]) **K. Noack, Zeitschrift für Botanik 12, 1920, S. 273.**

[3]) **K. Noack, Zeitschrift für Botanik 17, 1925, S. 481.**

starkem Sonnenlicht tagelang grün, während die sulfitfreien Kontrollen schon nach wenigen Stunden ausgebleicht waren.

Auch im Reagensglas ließen sich diese Versuche reproduzieren, indem molekulardispers gelöstes Chlorophyll, nicht aber das nicht fluoreszierende kolloidale Chlorophyll auf Benzidin eine photooxydative Wirkung ausübte. Obwohl die damit erfaßte photooxydative Wirkung des Chlorophylls in geschädigten Chloroplasten im Gegensatz zu dessen Reduktionswirkung auf die Kohlensäure in seinem normalen Zustand steht, war es doch erlaubt, auf dieser Grundlage weiterzubauen. Denn es stellte sich heraus, daß die photooxydative Leistung abgetöteter Chloroplasten von derselben Größenordnung ist wie deren Assimilationsleistung im normalen Zustand, wie auch späterhin Gaffron[1]) fand, daß die Sauerstoffübertragung durch belichtetes Chlorophyll annähernd dem Einsteinschen photochemischen Äquivalentgesetz entspricht. Außerdem konnte mit dem Modell: belichtetes Eosin-Natriumsulfit, das dabei zu Sulfat oxydiert wurde, bei intermittierender Belichtung in formaler Weise ein Befund nachgeahmt werden, den O. Warburg[2]) bei derselben Belichtungsweise bezüglich der Assimilationsleistung lebender Chloroplasten erhielt: Bei rasch aufeinanderfolgenden Hell- und Dunkelperioden ist in starkem Licht die photochemische Leistung in beiden Fällen so groß, als ob die Systeme während derselben Zeit dauernd belichtet worden wären.

Die sich daran anschließenden Untersuchungen, über die in diesem Rahmen näher zu berichten ist, wurden unter folgenden, teils theoretischen, teils praktischen Gesichtspunkten angestellt: Lassen sich die Befunde über die photooxydative Leistung des Chlorophylls und anderer fluoreszierender Farbstoffe unter der Annahme einer Schwermetallkatalyse in nähere Beziehung zur Assimilation bringen und beruht vielleicht die eigentümliche Wirkung kleinster Luftverunreinigungen auf die Vegetation in einer physiologischen Freilegung der photochemischen Energie des Chlorophylls auf dem Umweg über eine Ausschaltung eines Metallkatalysators? Nach Moore[3]) führen die Chloroplasten Eisen; ferner betrachtet O. Warburg die assimilationshemmende Wirkung von Blausäure und anderen Stoffen als die Folge einer Abbindung katalytisch wirksamen Eisens.

---

[1]) H. Gaffron, Naturwissenschaften 13, 1925, S. 860.
[2]) O. Warburg, Biochemische Zeitschrift 100, 1919, S. 230.
[3]) J. Moore, Proc. Roy. Soc. Bd. 87, 1914, S. 556.

A. Modellversuche zur Frage der Eisenbeteiligung an der Kohlensäureassimilation

In seinen früheren Versuchen konnte der Verfasser mit $\frac{mol}{200}$ Mangansalz und mehr die photooxydative Wirkung des Eosins auf Benzidin wesentlich beschleunigen. Dasselbe konnte nun mit Eisensalzen erreicht werden[1]), jedoch waren die zu einer katalytischen Wirkung befähigten Mengen eigentümlicherweise von ganz andrer Größenordnung und lagen zwischen $\frac{mol}{6000}$ und $\frac{mol}{50\,000}$. Über diesem Intervall liegende Konzentrationen hemmten die Photooxydation völlig. Wird z. B. eine wäßrige Benzidinlösung in Gegenwart von zirka 8% eines Halogensalzes unter Zusatz von Eosin 1:50000 und Ferrosalz in der oben angegebenen Menge belichtet, so tritt in wenigen Sekunden starke Benzidinblaubildung als Folge einer Photooxydation ein; ohne Halogensalz ging die Oxydation über die Benzidinblaustufe hinaus zur Bildung von violettbraunen Oxydationsstufen, die zur Gruppe der Chinondiimine gehören. Ferrisalze waren ohne Wirkung, wie überhaupt neuerdings nur das zweiwertige Eisen als physiologisch wichtig angesehen wird.

Diese Versuche ließen sich im Prinzip ebenso mit fluoreszierendem Chlorophyll durchführen; infolge der Notwendigkeit, dabei mit organischen Lösungsmitteln zu arbeiten, konnte kein Halogensalzzusatz zum System stattfinden, weshalb die oben erwähnten höheren Oxydationsstufen des Benzidins erhalten wurden. Auch hier bewirkte Zusatz von Ferrosalzen Beschleunigung der photooxydativen Chlorophyllwirkung. Dagegen wurde keine Wirkung erzielt mit wäßriger kolloidaler, also nicht fluoreszierender Chlorophyllösung, ebensowenig, und zwar in organischen Lösungsmitteln mit Kupferchlorophyll, d. h. einem Derivat, bei dem das Magnesium des eigentlichen Chlorophylls durch Kupfer ersetzt ist und das nicht fluoresziert.

Nebenbei bemerkt läßt sich eine Benzidinphotooxydation auch in den Chloroplasten abgetöteter Blätter nach Behandlung mit Benzidinwasser erzielen, wobei die Chloroplasten sich dunkelbraun färben, und zwar infolge der Bildung einer Benzidinoxydationsstufe, wie sich nach Extraktion des Farbstoffs nachweisen ließ, während die Dunkelkontrollen völlig grün blieben.

---

[1]) K. Noack, Biochemische Zeitschrift 183, 1927, S. 153.

Diese Ergebnisse konnten nun insofern auf die Verhältnisse in der lebenden Pflanze übertragen werden, als es sich zeigte, daß die Eisenwirkung in den Benzidinmodellversuchen durch kleinste Mengen solcher Stoffe gehemmt wird, auf die der Assimilationsapparat besonders reagiert, z. B. durch Blausäure und schweflige Säure.

Aus alledem kann der Schluß gezogen werden, daß durch diese Modelle einige Punkte erfaßt wurden, die bei der normalen Kohlensäureassimilation eine Rolle spielen müssen: 1. die Abhängigkeit der Chlorophyllfunktion vom molekulardispersen, fluoreszierenden Zustand des Farbstoffs; 2. die Mitwirkung von Eisen als Katalysator bei der Photosynthese, wie dies auch O. Warburg annimmt. Zu beachten ist natürlich, daß der biologische Prozeß, d. h. die Überführung der Kohlensäure in Kohlehydrate im ganzen einen Reduktionsvorgang darstellt, während es sich hier um eine Oxydation handelt. Immerhin scheinen, wie aus den oben gemachten Ausführungen hervorgeht, engere Beziehungen zwischen den beiden Vorgängen zu bestehen, wie es übrigens auch für O. Warburg[1]) außer Zweifel steht, daß die photochemischen Primärreaktionen in beiden Fällen identisch sind.

B. Die Wirkung von schwefliger Säure, salpetriger Säure usw. auf den Assimilationsapparat

Aus den Arbeiten früherer Untersucher ergab sich, daß die Kohlensäureassimilation, wie schon erwähnt, der gegen Einwirkung von Schwefeldioxyd empfindlichste Teil der Stoffwechselvorgänge ist. Jedoch ist es trotz zahlreicher Bemühungen nicht gelungen, diesen Umstand in die Pathologie der Rauchgasvergiftungen, die ja in erster Linie durch Schwefeldioxyd bedingt sind, einzuordnen, da die dadurch bedingte Assimilationshemmung keine unmittelbare Erklärung für das Absterben der Pflanzen in rauchgasgeschädigten Gegenden gibt und zur Schädigung der Vegetation so geringe Schwefeldioxydmengen genügen, daß eine ansäuernde oder chlorophyllzerstörende Wirkung der schwefligen Säure schon aus stöchiometrischen Gründen nicht in Frage kommen kann. Die meisten früheren Untersuchungen kranken an der komplizierten Struktur der Versuchspflanzen (Kulturgewächse, ganze Bäume usw.), ferner daran, daß

[1]) O. Warburg, Naturwissenschaften 13, 1925, S. 989.

wohl der Quantität, nicht aber der Zeitdauer nach für minimale Schwefeldioxydeinwirkung Sorge getragen wurde.

Unter dem Gesichtspunkt, daß das Chlorophyll, wie im vorigen gezeigt wurde, photooxydative Wirkung entfalten kann, wurde daher die Pathologie der Rachgasschädigung, und zwar zunächst an einem einfach gebauten Objekt, des näheren untersucht.

Zum Nachweis einer spezifischen Schädigung des Assimilationsapparates durch Gifte genügt es keinesfalls, die zu untersuchenden Stoffe auf die Pflanzen im Licht und zur Kontrolle im Dunkeln einwirken zu lassen und hierauf die gesetzten Schädigungen zu vergleichen, da die in Frage stehenden Stoffe ein allgemeines Protoplasmagift darstellen und das Licht seinerseits diese Allgemeinwirkung befördern könnte. Deshalb wurde die Vergiftung lediglich in Form einer Vorbehandlung im Dunkeln vorgenommen, worauf die Versuchspflanzen nach Befreiung von etwa äußerlich anhaftenden Giftstoffen teils belichtet, teils zur Kontrolle im Dunkeln belassen wurden. Durch möglichste Kleinhaltung der Vergiftungsmenge und Vergiftungsdauer wurde außerdem für spezifische Erfassung des empfindlichen Assimilationsapparats Sorge getragen.

Als Beispiel sei ein Versuch mit dem Wassermoos Fontinalis mitgeteilt, das wegen des einfachen Baus seiner Blätter für solche Zwecke besonders geeignet ist und dessen Charakter als Wasserpflanze eine einfache Dosierung der Giftstoffe erlaubt. Wurden Fontinalissprosse während 24 Stunden verdunkelt in einer Lösung von 0,0005% Natriumbisulfit (= 1 g Schwefeldioxyd auf 325 l Wasser) belassen, hierauf 5 Stunden ausgewaschen und anschließend in reinem, kohlensäurehaltigem Wasser belichtet, so zeigte sich je nach Lichtstärke in 3—4 Tagen allmählich fortschreitende Abtötung und Ausbleichung der Blätter, während die Kontrollpflanzen, die nach der Vergiftung im Dunkeln belassen worden waren, nach 5 Tagen nicht nur völlig lebend und frisch grün waren, sondern sogar noch quantitativanalytisch nachweisbare, beträchtliche Assimilationstätigkeit zeigten. Bei den Versuchspflanzen, d. h. den nach der Vergiftung belichteten Exemplaren, war die Assimilationsleistung schon unmittelbar nach der Vergiftung stark abgesunken, um in wenigen Stunden ganz zu erlöschen, ja sogar, um einer starken Sauerstoffaufnahme zur Bestreitung der jetzt einsetzenden rein photooxydativen Prozesse Platz zu machen.

Diese Lichtabhängigkeit der Schwefeldioxydschädigung beweist auf

Grund der im vorigen Abschnitt mitgeteilten Befunde, daß das Endglied des ganzen Vorgangs, die Abtötung des Protoplasmas und die Ausbleichung des Chlorophylls, nur eine mittelbare Folge der Schwefeldioxydvergiftung darstellt und unmittelbar in der durch die Vergiftung freigelegten, photooxydativen Wirkung des Chlorophylls zu suchen ist. Der Beweis hierfür konnte weiterhin dadurch erbracht werden, daß alle die verschiedenartigen Mittel, die die Kohlensäureassimilation hemmen, dieselbe Endwirkung unter den hier angewandten Versuchsbedingungen zur Folge haben. Genau so wirkte nämlich Kohlensäureentzug bei währender Belichtung oder Hemmung der Assimilation durch Phenylurethan, ein Narkotikum, dessen unmittelbare Wirkung auf den Assimilationsapparat in einer Oberflächenreaktion zu suchen ist, d. h. in einem Vorgang, der von der Wirkung der schwefligen Säure grundsätzlich verschieden ist.

Diese Befunde wurden auch bei der Vergasung von Landpflanzen mit Schwefeldioxyd erhalten. Ein instruktives Beispiel für die spezifische Wirkung kleinster Schwefeldioxydmengen auf die Chloroplasten ließ sich an Pflanzen erbringen, deren Blätter streifig panaschiert sind, d. h. sich aus grünen und weißen Streifen zusammensetzen, so z. B. bei Hemerocallis. Wird die im Dunkeln vorgenommene Vergasung mit Schwefeldioxyd so geregelt, daß keine allgemeine Protoplasmaschädigung eintritt, so zeigen nach 3—6tägiger Belichtung in reiner Luft lediglich die grünen Teile Schädigung in Form abgestorbener Flecken usw., während die weißen Teile wie auch die Gesamtblattfläche der Dunkelkontrollen noch nach 2—3 Wochen unversehrt waren.

Wegen der praktischen Bedeutung dieser Feststellungen wurden die Versuche unter Mitwirkung des Herrn O. W e h n e r sowohl auf wichtige Kulturpflanzen ausgedehnt als auch auf andere Giftstoffe, die in Industriegegenden als Luftverunreinigungen der Vegetationsschädigung verdächtigt werden.

Dabei ergab sich, daß vor allem nitrose Gase auf den Assimilationsapparat eine der schwefligen Säure völlig entsprechende Wirkung ausüben; weniger stark wirkte Chlorwasserstoff, während Ammoniak kaum als spezifisches Assimilationsgift anzusprechen ist, da hier Assimilationshemmung nicht klar von einer allgemeinen Protoplasmaschädigung abgetrennt werden konnte.

Besonders instruktiv sind die Untersuchungen des Assimilationsgaswechsels, da sich in diesem schon lange vor dem Auftreten sicht-

barer Schädigungssymptome die Alteration des Assimilationsapparates kundgibt. Außerdem zeigte sich dabei die bemerkenswerte Tatsache, daß Vorbehandlung mit Giftmengen, die noch geringer waren als sie zur Erzielung einer Assimilationsschädigung angewandt werden mußten, umgekehrt eine starke Steigerung der Assimilationsleistung, unter den gegebenen Bedingungen bis auf fast das Dreifache, bewirkt.

Ein Beispiel mit Fontinalis möge dies erläutern. Einzelne Portionen dieser Pflanze wurden zunächst im Dunkeln während 30 Minuten mit abgestuften Mengen von rauchender Salpetersäure, und zwar im Intervall von $5 . 10^{-1}$ bis $1 . 10^{-7}$% vorbehandelt, hierauf eine Stunde lang gut ausgewaschen und in der folgenden halben Stunde im Licht auf ihre Assimilationsleistung in kohlensäurehaltigem Wasser geprüft. In dieser Zeit wurden von den verschiedenen Versuchsportionen ff. Mengen von Assimilationssauerstoff abgegeben:

Vorbehandelt mit rauchender Salpetersäure in folgender Konzentration %	Assimilationsleistung in Prozent der Norm
$5 \cdot 10^{-1}$	0
$1 \cdot 10^{-1}$	20
$1 \cdot 10^{-2}$	26
$5 \cdot 10^{-3}$	44
$1 \cdot 10^{-3}$	60
$1 \cdot 10^{-4}$	119
$1 \cdot 10^{-5}$	200
$1 \cdot 10^{-6}$	270
$5 \cdot 10^{-7}$	100

Ähnliche Werte wurden nach ebensolcher Vorbehandlung mit schwefliger Säure erhalten: Mengen von $1 . 10^{-1}$ bis $1 . 10^{-4}$% schwefliger Säure hatten Assimilationshemmung in abnehmendem Maß zur Folge, während die Dosis von $5 . 10^{-6}$% eine Steigerung der Assimilation auf zirka 140% der Norm bewirkte.

Wurden die Portionen mit gesteigerter Assimilationsleistung weiterhin belichtet, so sank diese in einigen Stunden zur Norm herab, während die Wirkung der Vorbehandlung interessanterweise weit länger anhielt, wenn die Pflanzen nach der Vorbehandlung zunächst einige Stunden im Dunkeln belassen wurden, so daß an einen allmählichen Verbrauch der aufgenommenen Säuremengen während der Belichtung bzw. Assimilation zu denken ist.

Die assimilationshemmende Wirkung der höheren Giftdosen wurde dagegen im Lauf weiterer Stunden nicht aufgehoben; die Assimilation ging immer weiter zurück, und zwar um so rascher, je höher die angewandte Lichtstärke war. Schließlich trat Tod und Ausbleichung der Pflanzen ein.

Zur Übertragung dieser Befunde auf wichtige Kulturpflanzen (Klee, Hafer und Tabak) wurde eine besondere Apparatur geschaffen, die es ermöglichte, nicht nur einzelne Blätter, sondern auch ganze, nicht zu große Pflanzen auf ihre Assimilationsleistung, und zwar in einem Luftstrom von normalem Kohlensäuregehalt (0,04%) zu prüfen.

Die Ergebnisse waren grundsätzlich dieselben, jedoch zeigten sich gewisse individuelle Unterschiede in der Giftempfindlichkeit der einzelnen Pflanzenarten, die mindestens zum Teil auf die verschiedenen anatomischen Verhältnisse ihrer gegenüber dem Wassermoos Fontinalis bedeutend komplizierter gebauten Blätter zurückzuführen ist. Besonders empfindlich erwies sich Klee, was mit den praktischen Erfahrungen über Rauchgasschädigungen in Industriegegenden übereinstimmt: Kleepflanzen wurden z. B. während 20 Minuten im Dunkeln in 6½ l fassenden Glasglocken mit nitrosen Gasen vorbehandelt derart, daß die Glocken zuvor mit abgestuften Mengen von rauchender Salpetersäure beschickt worden waren, und zwar mit je 1 Tropfen einer Säure von 50% bis 20%. Nach Entfernung von überschüssigen Gasresten unter der Luftpumpe im feuchten Raum wurde die Assimilationsleistung, und zwar sowohl Kohlensäureaufnahme als Sauerstoffabgabe, nach einstündiger Belichtung im Luftstrom bestimmt. Die Ergebnisse waren folgende:

Vorbehandelt mit 1 Tropfen rauchender Salpetersäure von Prozent	Assimilationsleistung in Prozent der Norm
50	20
33	65
25	100
20	120

Ähnliche Ergebnisse wurden mit schwefliger Säure erhalten, wie auch bei Anwendung anderer Kulturpflanzen, die sich nur im Grad der Empfindlichkeit verschieden erwiesen. Dies zeigt folgender Vergleichsversuch, bei dem die unten genannten Pflanzen gleichmäßig

20 Minuten lang mit 10 Tropfen einer 20%igen schwefligen Säure auf 6½ l vorbehandelt wurden. Nach einstündiger Belichtung ergab sich bei

Klee	eine Assimilationsleistung von	27%	der Norm
Tabak	„ „ „	73%	„ „
Spinat	„ „ „	125%	„ „

Kurz dauernde Einwirkung kleinster Giftmengen genügt also, um Assimilationshemmung und darauf Abtötung der grünen Pflanzen herbeizuführen.

Zusammen mit der weiter oben beschriebenen photooxydativen Wirkung des Chlorophylls ergibt sich nun folgendes Bild:

Die Vegetationsschädigung durch kleine Mengen von schwefliger Säure usw. stellt eine spezifische Alteration des Assimilationsapparats dar, derart, daß das erste Glied in dem pathologischen Prozeß eine Verarbeitung der Kohlensäure durch die Chloroplasten hindert. Bei währender Belichtung wird dadurch die photochemische Energie des Chlorophylls auf andere Akzeptoren abgelenkt und bringt auf photooxydativem Weg das Protoplasma zur Abtötung und den Farbstoff selbst, wie übrigens auch die Karotine, zum Ausbleichen. So wird das Chlorophyll bei Störung seiner normalen Funktion zu einem tödlichen Gift, dessen Wirkung um so stärker ist, je höher die Lichtintensität, und im Dunkeln natürlich überhaupt nicht zum Ausdruck kommt.

Aus alledem ergibt sich die für die Praxis wichtige Folgerung, daß die Beurteilung einer bestimmten Industrieluft hinsichtlich ihrer Schädlichkeit für die Vegetation außerordentlich kompliziert ist und daß eine Normierung auf Grund ihres Gehalts an bestimmten Stoffen, wie sie von der Technik oft schon angestrebt wurde, nicht durchgeführt werden kann. Verschiedenes Verhalten der einzelnen Pflanzen und geradezu entgegengesetzte Wirkung verhältnismäßig wenig unterschiedener Giftmengen stehen dem ebenso entgegen wie vor allem die Tatsache, daß schon kurz dauernde Begasung zu starken Schädigungen führen kann und dabei die meteorologischen Verhältnisse, vor allem Sonnenstärke und Windrichtung, während eines kleinen Zeitintervalls von ausschlaggebender Bedeutung sind.

Andererseits ist auch die Möglichkeit starker Assimilationssteigerung durch ganz geringe Mengen von nitrosen Gasen und schwefliger Säure beachtenswert. Es dürfte sich wohl lohnen, im geschlossenen

Raum, d. h. in Gewächshauskulturen, der Möglichkeit einer Ertragssteigerung durch entsprechende Vergasung, vielleicht in Kombination mit einer Kohlensäureanreicherung, nachzugehen. Denn es ist ja bekannt, daß die Pflanze in der Zeiteinheit weit mehr Kohlensäure verarbeiten kann, als ihr in der Luft unter normalen sonstigen Bedingungen, bei hinreichender Temperatur und Lichtstärke, zur Verfügung steht.

Theoretisch sind die Versuche insofern von Belang, als sie, abgesehen von dem Nachweis der physiologischen Freilegung einer photooxydativen Wirkung des Chlorophylls, in Anbetracht der chemischen Eigenschaften der schwefligen und der salpetrigen Säure einen weiteren Beweis für die Mitwirkung des Eisens bei der Photosynthese darstellen, insofern als die genannten Stoffe wohl in der Lage sind, etwa katalytisch wirksames Eisen in der Pflanze abzubinden, wie dies O. Warburg bei der assimilationshemmenden Wirkung der Blausäure und auch des Schwefelwasserstoffs annimmt.

Jedoch mußte dieser Frage noch weiter nachgegangen werden. Der Grundgedanke war dabei der, durch schweflige Säure usw. etwa abgebundenes Eisen durch neu zugeführtes Eisen zu ersetzen. In gewissen Umfang ist dies auch gelungen. Es war gemäß dem früher beschriebenen Ausfall der photochemischen Modellversuche mit dem System Eosin bzw. Chlorophyll und Benzidin damit zu rechnen, daß nur Verbindungen des zweiwertigen Eisens dabei in Frage kommen, wie auch Wieland[1]) neuerdings nur dem zweiwertigen Eisen katalytische Wirkung zuspricht. Zur Untersuchung kamen Ferrobikarbonat, Ferrosulfat, -laktat u. a. Wurden diese Eisensalze Fontinalissprossen oder abgeschnittenen Klee- und Tabakblättern vor der Vergiftung mit schwefliger oder salpetriger Säure in bestimmten Mengen dargeboten, so war keine Minderung der durch die Assimilationsgifte bewirkbaren Schädigung hernach festzustellen, wohl aber war dies der Fall, wenn die Eisenbehandlung der Vergiftung nachfolgte. Folgender Versuch mit Ferroammonzitrat möge dies beleuchten.

Fontinalissprosse wurden ½ Stunde lang mit rauchender Salpetersäure in einer Konzentration von $5 \cdot 10^{-3}\%$ im Dunkeln vorbehandelt, ausgewaschen und dann weiterhin im Dunkeln in einer 0,02%igen Ferroammonzitratlösung 72 Stunden lang belassen. Eine nicht mit Eisen behandelte Kontrollportion zeigte unmittelbar nach der Säure-

[1]) H. Wieland und W. Franke, Annalen der Chemie, 464, 1920, S. 201.

behandlung eine Assimilationsleistung von 49% der Norm. Nach der 72stündigen Eisenbehandlung betrug die Assimilationsleistung der Versuchsportion 51% der Norm, während eine Kontrollportion, die ebenfalls 72 Stunden, jedoch ohne Eisen, im Dunkeln belassen worden war, in ihrer Leistung inzwischen auf 35% zurückgegangen war. Durch die Eisennachbehandlung war also die Assimilationsleistung auf das 1,5fache gestiegen. Verbindungen mit dreiwertigem Eisen waren ohne Wirkung.

Ähnlich verliefen Versuche mit Tabakblättern, wenn auch die Hebung der Vergasungsschäden durch Eisen in diesem Fall geringer war und z. B. nur das 1,15fache betrug. Versuche, intakte Pflanzen von der Wurzel aus mit Eisen zu versorgen, schlugen fehl, wie auch die Versuche mit abgeschnittenen Luftblättern wohl daran litten, daß der Weg des Eisens zu den Chloroplasten bei ihnen bedeutend komplizierter ist als bei den einfach gebauten, von Eisensalz unmittelbar umspülten Fontinalisblättern.

Bemerkenswert ist, daß organische Eisenverbindungen sich wirksamer erwiesen als anorganische, was wohl zum Teil mit der Assimilierbarkeit des organischen Anions durch die Pflanze zusammenhängt. Folgender Vergleich aus Versuchen mit Fontinalis, die ½ Stunde mit $1 . 10^{-3}$%iger rauchender Salpetersäure vorbehandelt war, mag dies erläutern:

Nachbehandlung mit je zirka 0,02%	Hebung der geschädigten Assimilation von 1 auf
Ferrobikarbonat	1,19
Ferrosulfat	1,17
Ferrolaktat	1,23
Ferroammonzitrat	1,53

Praktische Bedeutung für eine etwaige Bekämpfung der Rauchgasschäden kommt diesen Versuchen nicht zu, jedoch beanspruchen sie theoretisches Interesse. Es dürfte hiermit der unmittelbare Beweis geliefert sein, daß die giftige Wirkung der schwefligen Säure usw. tatsächlich auf der Abfangung von Chloroplasteneisen beruht, das bei der Photosynthese gemäß den früheren Befunden an den photochemischen Modellen katalytisch wirksam ist. Damit wird es auch verständlich, daß schon geringste Giftmengen die Photosynthese völlig zu

hemmen imstande sind, da der Eisengehalt der Chloroplasten naturgemäß nur gering sein kann.

Dabei sind noch drei Punkte näher zu beleuchten:

a) Die durch Vorvergiftung geminderte Assimilationsleistung konnte durch diese Eisentherapie nie bis auf die Norm zurückgesteigert werden, sondern immer nur bis ungefähr zu der Größe, die sie unmittelbar nach der Vergiftung, d. h. vor der Eisenbehandlung, aufwies, während deren Dauer die eisenfreien Kontrollen, wie oben beschrieben, ihre Assimilationsleistung weiterhin stark verminderten. Hieraus kann der Schluß gezogen werden, daß das zugeführte Eisen wohl nicht als Ersatz des durch die Gifte abgebundenen Chloroplasteneisens in den Chloroplasten eindringt, sondern nur die noch nicht in den Chloroplasten verankerten Giftreste abfängt und daß diese den Grund der fortschreitenden Chloroplastenschädigung in den eisenfrei belassenen Kontrollen abgeben. Damit wird jedoch der wesentliche Punkt, der auf der gegenseitigen Einwirkung von Eisen und spezifischen Assimilationsgiften beruht, nicht betroffen.

b) Eine prophylaktische Eisenbehandlung, d. h. eine Eisenzufuhr vor der Vergiftung, hatte keine Minderung der Giftschädigung zur Folge. Offenbar genügen die zur Vergiftung angewandten Mengen von schwefliger Säure usw., um auch einen gewissen Eisenüberschuß, der an sich nicht groß sein kann, katalytisch unwirksam zu machen.

c) Es muß dem Einwand begegnet werden, daß die Eisenwirkung lediglich auf allgemeiner Protoplasmastimulierung beruhen könnte. Es sind nun in den Narkotika Stoffe gegeben, die die Photosynthese nicht durch Eisenabfangung, sondern durch Verdrängung der Kohlensäure von der Chloroplastengrenzfläche hemmen, sodaß also eine Eisenabfangung hier nicht in Frage kommt. Erwartungsgemäß zeigte sich nun, daß eine durch Phenylurethan als Narkotikum geminderte Assimilationsleistung durch Eisenzufuhr nicht gehoben werden kann, demnach die Ursache der Eisenwirkung nicht in allgemeiner Stimulation der Protoplasmatätigkeit zu suchen ist.

d) Ferner muß noch ein scheinbarer Widerspruch geklärt werden, der darin gesehen werden kann, daß die im Modellversuch nachweisbare katalytische Eisenwirkung bei der Photooxydation ebenso wie der biologische Vorgang der Photosynthese durch die spezifischen Assimilationsgifte gehemmt wird. Damit läßt sich zunächst die Behauptung einer photooxydativen Zerstörung des Protoplasmas und der Chloroplastenfarbstoffe als Folge der Assimilationshemmung

durch die spezifischen (eisenabfangenden) Assimilationsgifte nicht vereinen. Demgegenüber ist jedoch zu betonen, daß gerade beim Chlorophyll auch ohne Eisenzusatz im Modellversuch die photooxydative Wirkung sowohl auf Benzidin als auf das Chlorophyll selbst stark in Erscheinung tritt und durch Eisen nur beschleunigt wird.

Es erhebt sich nun die Frage, ob die unmittelbare Ursache der Rauchgasvergiftung usw. in Form einer Eisenabbindung auch durch Untersuchung des pflanzlichen Eisens selbst sinnfällig gemacht werden kann. Zu diesem Zweck unternimmt der Verfasser zur Zeit mit Herrn Grießmeyer Untersuchungen über den Eisengehalt rauchgasvergifteter Pflanzen im Vergleich zu normalen. Da anzunehmen ist, daß das Eisen in adsorbiertem oder sonstwie locker gebundenem Zustand seine katalytische Wirksamkeit entfaltet, wurde die Frage geprüft, ob sich etwa der wasserlösliche Anteil des Eisens bei der Einwirkung spezifischer Assimilationsgifte erhöht. In Anbetracht der Geringfügigkeit der Eisenmengen wurde die von Willstätter für kleine Mengen ausgearbeitete kolorimetrische Eisenbestimmung mittels Ferrirhodanid angewandt.

Als Versuchspflanzen dienten zunächst Mais und Gerste, die mit Zyankali, rauchender Salpetersäure und Natriumbisulfit in der Weise vorbehandelt wurden, daß keine Tötung, sondern lediglich Assimilationshemmung eingetreten war. Die folgende Tabelle zeigt, daß durch diese Vorbehandlung der Anteil des wasserlöslichen Eisens tatsächlich bis auf das Vierfache erhöht wird; die Werte beziehen sich auf je 5 g Trockensubstanz:

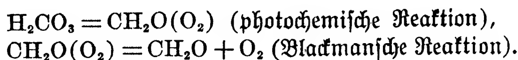
Mais	Fe_2O_3 im Wasserauszug	Fe_2O_3 im Rückstand	Summe	Prozent Fe_2O_3 des Wasserauszugs von der Summe
Normal	2,39 mg	32,14 mg	34,53 mg	6,9%
Zyankali	3,1 mg	31,22 mg	34,32 mg	9,3%
Rauch. Salpetersäure	4,13 mg	30,12 mg	34,27 mg	12,1%
Natriumbisulfit ..	9,51 mg	25,01 mg	34,52 mg	27,8%

Mit Gerste wurden dieselben Ergebnisse erhalten.

Hand in Hand mit diesen Untersuchungen geht die mikroskopisch-chemische Prüfung des Eisengehalts der Chloroplasten mittels der Hämatoxylinmethode. Es zeigt sich hierbei, daß die Farbreaktion des

Eisens mit Hämatoxylin im Chloroplasten nach Vergiftung mit den oben genannten Stoffen deutlich stärker ist als bei normalen Pflanzen. Dies spricht dafür, daß durch die Vergiftung eine Lockerung des im Chloroplasten irgendwie gebundenen Eisens, des „maskierten Eisens", erzeugt wird, wodurch sich zugleich die Berechtigung ergibt, die obigen Analysenergebnisse auf das Chloroplasteneisen zu beziehen. Die Untersuchungen werden fortgesetzt.

Die so gewonnenen Erfahrungen erlauben, ein Bild von der Kohlensäureassimilation in großen Zügen zu entwerfen. Dieser Prozeß muß zunächst in irgendeiner Weise mit dem fluoreszierenden Zustand des Chlorophylls zusammenhängen. Ob es sich hierbei um eine besondere chemische Erregungsweise handelt oder ob die Fluoreszenz nur sekundär als Folge des molekulardispersen Chlorophyllzustands, der seinerseits für die Photosynthese Voraussetzung wäre, in Frage kommt, muß dahingestellt bleiben. Auf alle Fälle ist das fluoreszierende Chlorophyll zu einer Photoreaktion fähig, die sich bei Störung der normalen Chloroplastentätigkeit als eine Photooxydation äußert, wie sie in Modellversuchen nicht nur mit Chlorophyll, sondern auch mit anderen fluoreszierenden Farbstoffen reproduziert werden kann und die sich durch Eisen beschleunigen läßt. Die hierzu nötigen Eisenmengen sind so gering, wie sie im Chloroplasten, der mikroskopisch-chemisch nachweisbares Eisen enthält, als grundsätzlich vorhanden angenommen werden können. Über den Chemismus der Kohlensäureassimilation kann noch nichts weiter ausgesagt werden, jedoch ist zu betonen, daß sich die mitgeteilten Befunde durchaus mit der Ansicht O. Warburgs[1]) vereinen lassen, der den Assimilationsvorgang in eine temperaturabhängige, photochemische Reaktion und eine temperaturabhängige, von ihm als „Blackmansche Reaktion" bezeichnete Folgereaktion zerlegt und in dieser einen durch Eisen katalysierten Vorgang erblickt, bei dem gemäß den Anschauungen Willstätters Formaldehydperoxyd in Formaldehyd, d. h. dem Baustein der Kohlehydrate, und Sauerstoff, gespalten wird, den ja die Pflanze bei der Photosynthese nach außen abgibt:



$$H_2CO_3 = CH_2O(O_2) \quad \text{(photochemische Reaktion),}$$
$$CH_2O(O_2) = CH_2O + O_2 \quad \text{(Blackmansche Reaktion).}$$

[1]) O. Warburg, Biochemische Zeitschrift 166, 1925, S. 386.

Vom energetischen Gesichtspunkt aus ist die Photosynthese mit der Entstehung der Formaldehydstufe abgeschlossen, ohne daß diese unmittelbar im Blatt nachweisbar zu sein braucht. Denn die Kohlehydrate stellen dieselbe Oxydationsstufe des Kohlenstoffs wie der Formaldehyd dar, so daß deren Bildung aus Formaldehyd energetisch ohne Belang ist. Es konnte auch noch nie Formaldehyd als Assimilationszwischenstufe mit Sicherheit nachgewiesen werden.

Außerdem läßt sich die Erscheinung der Rauchgasvergiftung unter diesem Gesichtspunkt in einzelne Teile zerlegen und näher verstehen. Die primäre Krankheitsursache besteht in der Abfangung katalytisch wirksamen Eisens in den Chloroplasten durch schweflige oder salpetrige Säure und eine Reihe andrer Stoffe. Dadurch wird die photochemische Energie des Chlorophylls von seinem normalen Akzeptor, der Kohlensäure, auf das Protoplasma abgelenkt und bringt dieses auf photooxydativem Weg zur Abtötung, wie auch dadurch mehr oder weniger gleichzeitig eine photooxydative Ausbleichung der Chloroplastenfarbstoffe in Erscheinung tritt. Damit erklärt sich auch die Tatsache, daß eine Assimilationshemmung auf anderem Wege als durch Eisenabfangung, z. B. durch Narkotisierung oder einfachen Kohlensäureentzug bei währender Belichtung, dieselben als unmittelbare Todesursache anzusprechenden Erscheinungen nach sich zieht.

III. Untersuchungen über die Entstehung des Chlorophylls in der Pflanze

Die Frage der Chlorophyllbildung in der Pflanze hat noch keine unmittelbare Bearbeitung erfahren, seit Willstätter die Konstitution des Chlorophylls weitgehend aufgeklärt hat. Wenn es im allgemeinen schwierig ist, der Synthese eines Stoffs in der Pflanze nachzugehen, d. h. sie zu näherer Kenntnis des Vorgangs in einzelne Stufen zu zerlegen, so bietet die Chlorophyllbildung insofern günstige Verhältnisse dar, als durch äußere Bedingungen eine solche Abstufung in der lebenden Pflanze erreicht werden kann.

In weitaus den meisten Pflanzen wird das Chlorophyll nur bei Belichtung gebildet, während im Dunkeln aufgezogene, d. h. etiolierte Pflanzen, Blätter von gelber Farbe tragen, die bei folgender Belichtung in Grün übergeht. Es bestehen nun gute Gründe, diese Ergrünung im Licht nicht als eine Synthese des Farbstoffs von Grundsubstanzen aus aufzufassen, sondern nur als verhältnismäßig einfache Umwandlung eines Körpers zu betrachten, der auch im Dunkeln

gebildet wird und dem Chlorophyll schon nahesteht. Denn einmal geht der Ergrünungsvorgang beim Belichten zuvor verdunkelter Pflanzen oft sehr rasch vor sich; zum andern sind die chemischen Wirkungen des Lichts nach den bisherigen Erfahrungen in vitro im allgemeinen nicht derart, daß sie sehr weitgehende chemische Änderungen eines Körpers zur Folge hätten; zum dritten, und dies ist das Wichtigste, ist schon vor vielen Jahren in verdunkelt aufgezogenen Pflanzen ein Farbstoff nachgewiesen worden, der mit dem Chlorophyll Ähnlichkeit hat, wie dieses grün ist und in organischen Lösungsmitteln ebenfalls rot fluoresziert. Jedoch ist er, wie sein spektroskopisches Verhalten zeigt, mit Chlorophyll keineswegs identisch. Zum Beispiel fehlt ihm das breite Absorptionsband des Chlorophylls im Rot bei zirka 640—680 $\mu\mu$, das durch ein schmäleres Band bei zirka 620—640 $\mu\mu$ ersetzt ist.

Dieser Farbstoff wurde zuerst von Pringsheim (1874) gesehen und von ihm Etiolin genannt. Jedoch stellte sich heraus, daß das Etiolin kein einheitlicher Farbstoff ist, sondern ein Gemisch der auch im Dunkeln bildungsfähigen Karotinoide mit der eigentlichen Chlorophyllvorstufe darstellt. Erst Monteverde[1]) hat sich 1894 näher mit dieser Vorstufe befaßt und sie als Protochlorophyll bezeichnet, jedoch kamen weder Monteverde noch auch Lubimenko über eine allgemeine Charakterisierung ihrer Rohextrakte hinaus. Im Jahr 1909 faßten die beiden Forscher[2]) ihre Ansicht über die Chlorophyllbildung dahin zusammen, daß in der dunkel aufgezogenen Pflanze ein Chlorophyllogen vorhanden ist, das bei Belichtung in Chlorophyll übergeht, sich dagegen bei Zerstörung der Pflanze durch die für die Extraktion nötigen Manipulationen in Protochlorophyll umwandelt. Ähnliche Ansichten vertrat auch Liro[3]). Zu dieser die Verhältnisse komplizierenden Folgerung sind die genannten Forscher dadurch gekommen, daß sie das Protochlorophyll im lebenden Blatt spektroskopisch nicht beobachten konnten und daher diesem Farbstoff den Charakter einer unmittelbaren Chlorophyllvorstufe absprachen. Jedoch hat aus später zu erörternden Gründen Greilach[4]) das Richtige getroffen, wenn er die Unsichtbarkeit

[1]) N. Monteverde, Acta Horti Petropolitani 13, II, 1894, S. 201.

[2]) N. Monteverde und W. Lubimenko, Biologisches Zentralblatt 31, 1911, S. 499.

[3]) J. Liro, Annales Academiae Scientiarum Fennicae. Serie A 1, 1909, S. 1.

[4]) H. Greilach, Sitzungsberichte der Kaiserlichen Akademie der Wissenschaften. Wien I, 113, 1904, S. 121.

des Protochlorophylls im lebenden Blatt einfach mit der Geringfügigkeit der vorhandenen Farbstoffmenge erklärt.

Die Untersuchungen des Verfassers, bei denen er durch Herrn Dr. Kießling unterstützt wird, bezwecken zunächst, der chemischen Konstitution des Protochlorophylls näherzukommen, wozu natürlich die noch nicht versuchte Isolierung des Farbstoffs nötig war. In Anbetracht der vorauszusetzenden Ähnlichkeit des Protochlorophylls mit dem Chlorophyll wurde die Darstellungsweise der von Willstätter für die Chlorophyllherstellung geschaffenen Methode angepaßt. Voruntersuchungen an etiolierten Haferpflanzen u. a. ergaben nun, daß die Protochlorophyllgewinnung aus Blättern nur mit größtem Materialaufwand möglich ist. So war ein glücklicher Umstand darin gegeben, daß, wie Monteverde und Lubimenko fanden, die inneren Samenhäute von Luffa, Kürbis und anderen Kukurbitazeen ihre grüne Farbe ebenfalls dem Protochlorophyll verdanken und daß dieses Material der Protochlorophylldarstellung zugänglicher ist.

Zur Verwendung gelangten die frei präparierten Samenhäute angekeimter Speisekürbisse in Chargen von 250 g, die nach Trocknung zunächst fein vermahlen wurden. Durch Vorextrahieren mit leicht siedendem Petroläther wurde ein Teil der fettigen Begleitstoffe entfernt, worauf der Farbstoff mit 80%igem Azeton herausgelöst und in Petroläther überführt wurde. Beim Wegwaschen des Azetons in vorsichtiger Abstufung fiel der Farbstoff in Flocken aus, wurde auf Talk abfiltriert, in Äther wieder gelöst und mit Petroläther ausgefällt. Diese Umfällung wurde mehreremals wiederholt, wonach eine dunkelgrüne, wie das Chlorophyll nicht kristallisierende Substanz resultierte, die leicht pulverisierbar war, jedoch, wie Mikroanalysen ergaben, noch keine Reinsubstanz darstellte. Die sehr schwierige völlige Reinigung ist noch nicht gelungen. Immerhin ist im Verlauf der Reinigung der Schmelzpunkt von anfänglich 80° auf 120° gestiegen, was dem Schmelzpunkt der Chlorophyllkomponenten a und b entspricht. Die Substanz stimmt in ihren Löslichkeitsverhältnissen mit dem Chlorophyll überein und zeigt in Lösung die von Monteverde und Lubimenko für ihre Rohextrakte angegebenen spektroskopischen Eigenschaften.

Seinem sehr ausgeprägten Absorptionsspektrum nach muß das Protochlorophyll dem Chlorophyll nahestehen, weshalb zuerst auf Anwesenheit von Magnesium geprüft wurde, das sich bekanntlich

aus Chlorophyll durch Säure abspalten läßt. Schon Monteverde und Lubimenko erhielten nach Behandlung ihrer Protochlorophyllextrakte mit Säure einen zweiten Farbstoff („Protochlorophyllan"), den Lubimenko als Oxydationsprodukt des Protochlorophylls ansprach. Dieser zweite Farbstoff (Substanz II) stellt nach der Isolierung ebenfalls ein nicht kristallisierendes, dunkelgrünes Pulver dar, das in Lösung wechselfarbig rot und grün ist, starke Rotfluoreszenz zeigt und im ganzen einen prachtvollen Farbstoff mit ausgezeichneten spektroskopischen Eigenschaften darstellt. Die Vermutung, daß Substanz II ein magnesiumfreies Derivat des Protochlorophylls ist, d. h. sich zu diesem verhält wie Phäophytin zum Chlorophyll, ließ sich wie folgt beweisen:

1. Wird eine ätherische Protochlorophyllösung mit verdünnter Säure geschüttelt, so läßt sich in dieser mittels Tetraoxyanthrachinon nach Hahn Magnesium nachweisen.
2. Nach Überwindung vieler Schwierigkeiten gelang es, mittels der Grignardschen Reaktion unter Anwendung von Äthylmagnesiumjodid in Substanz II wieder Magnesium einzuführen und zu einem Produkt zu kommen, das spektroskopisch mit Protochlorophyll identisch ist. Auf diese Weise hat Willstätter Phäophytin in Chlorophyll überführt, weshalb in allerdings zum Teil vorausgreifender Weise von nun an die Substanz II als Protophäophytin bezeichnet werden soll. Hierfür werden im folgenden noch weitere Begründungen gegeben.

Somit ist bewiesen, daß das Protochlorophyll Magnesium enthält; jedoch muß dies bedeutend lockerer als im Chlorophyll gebunden sein; Laboratoriumsluft, Stehenlassen getrockneter Kürbiskeimlinge in reiner Luft, Einengen roher Ätherextrakte genügt schon zur Umwandlung des Protochlorophylls in Protophäophytin.

Der hervorragende Farbcharakter des Protophäophytins ließ vermuten, daß zum mindesten dessen Typus schon anderen Untersuchern vorgelegen hat. Es ergab sich nun auch, daß Protophäophytin in seinem spektroskopischen Verhalten die größte Ähnlichkeit mit einem Farbstoff zeigt, der in der Galle grüngefütterter Tiere nachweisbar ist, von Marchlewski[1]) Phylloerythrin genannt und von Lö-

[1]) M. L. Marchlewski, Anzeiger der Akademie der Wissenschaften. Krakau Jahr 1903, 1904, S. 638.

bisch und Fischler[1]) in kleinen Mengen kristallisiert erhalten und als Bilipurpurin bezeichnet wurde. Der Rest dieses Präparats wurde von H. Fischer[2]) aufgearbeitet, ohne daß dieser über die Konstitution des Körpers zu einem endgültigen Schluß gekommen wäre.

Zur Untersuchung des Zusammenhangs zwischen Protophäophytin und Phylloerythrin wurden nun größere Mengen Phylloerythrin aus Rindergalle in prachtvoll violetten Kristallen hergestellt; aus 5 l Galle wurden im Sommer 150 mg, im Winter jedoch nur 10 mg erhalten. Die spektroskopische, wie auch die spektrographische Ähnlichkeit zwischen den Chloroformlösungen des Phylloerythrins und des Protophäophytins ist weitgehend; Intensität und Breite der Banden sind völlig gleich; es besteht lediglich der Unterschied, daß sämtliche Absorptionsbanden des Phylloerythrins gegenüber denen des Protophäophytins einschließlich ihres Schwerpunkts um zirka 60—70 A nach Violett verschoben sind.

Somit war zu vermuten, daß der konstitutionelle Unterschied zwischen den beiden Substanzen darin besteht, daß das Protophäophytin im Gegensatz zum Phylloerythrin noch die für das Chlorophyll typische Phytolgruppe enthält. Hierfür spricht die Nichtkristallisierbarkeit des Protophäophytins und seine Verseifbarkeit.

In derselben Weise wie beim Protophäophytin konnte auch beim Phylloerythrin eine Beziehung zum Protochlorophyll hergestellt werden: Es gelang, mittels Jodmagnesiumdimethylanilin auch in das Phylloerythrin Magnesium einzuführen und so zu einem grünen Farbstoff zu kommen, dessen Absorptionsspektrum mit dem des Protochlorophylls identisch war bis auf den Unterschied, daß auch hier das gesamte Bandensystem um zirka 70 Å gegenüber dem Protochlorophyll nach Violett verschoben war.

Die weitere Untersuchung hatte zunächst die konstitutionelle Aufklärung des Phylloerythrins zum Ziel. Bis jetzt konnte festgestellt werden, daß das Phylloerythrin Karboxylgruppen im Molekül enthält, die nicht frei vorkommen und nur auf ganz besondere, schonende Weise freigelegt werden können, so daß also der Farbstoff, wie schon H. Fischer bemerkt, weder eine freie Säure, noch einen Ester darstellt.

Der wichtigste Punkt der Untersuchung liegt nun in der Frage nach dem chemischen und physiologischen Zusammenhang zwi-

[1]) W. F. Loebisch und M. Fischler, Sitzungsberichte der Akademie der Wissenschaften. Wien IIb, 112, 1903, S. 159.

[2]) H. Fischer, Zeitschrift für physiologische Chemie 96, 1915/16, S. 292.

schen Protochlorophyll und dem fertigen Chlorophyll. Es gelang, in vitro chemisch reines Chlorophyll a + b, genauer gesagt die zugehörigen Phäophytine, gelöst in Propylalkohol durch Reduktion mit Eisenpulver und wenig Salzsäure in der Hitze innerhalb zwei Minuten mit bisher zirka 50% Ausbeute in einen roten, nicht mit Alkali aus Äther extrahierbaren Körper zu überführen, der spektroskopisch mit dem aus Protochlorophyll durch Magnesiumabspaltung gewonnenen „natürlichen" Protophäophytin völlig identisch ist und daher als „künstliches" Protophäophytin bezeichnet werden soll. Diese Reduktion gelingt auch mit den isolierten Farbstoffkomponenten a und b gleichermaßen, ebenso, wenn auch in kleiner Ausbeute, mit allomerisiertem und mit verseiftem Chlorophyll. Im letzten Fall entsteht dabei ein Körper, der mit dem nachträglich verseiften künstlichen Protophäophytin und der freien Karbonsäure aus Phylloerythrin spektral identisch ist. Daneben entsteht, vor allem beim allomerisierten und beim verseiften Chlorophyll, ein brauner Körper mit typischem Absorptionsspektrum, der als reduktives Aufspaltungsprodukt angesehen werden muß, jedoch bisher nicht weiter untersucht wurde. Schon Berzelius[1]) hat 1838 aus Chlorophyll durch Reduktion in saurer Lösung rote Flocken erhalten, ohne daß dieser Befund weiterhin Interesse erregt hätte.

Damit ist im Prinzip die Reduktion des Chlorophylls zu Protochlorophyll gelungen, da sich ja das Protochlorophyll von Protophäophytin nur durch die Anwesenheit des durch Säure leicht abspaltbaren Magnesiums unterscheidet.

In diesen Ergebnissen liegt nun zusammen mit der obenerwähnten Umwandlung des Protophäophytins in Protochlorophyll die Berechtigung, jenes eben als Protophäophytin zu bezeichnen; der verhältnismäßig milde reduktive Angriff auf das Chlorophyll kann keineswegs eine Abspaltung des Phytols und der Methylgruppe zur Folge haben, sodaß also auch das Protochlorophyll seinen Namen mit Recht trägt.

Die vergleichende Untersuchung des natürlichen und künstlichen Protophäophytins und des Phylloerythrins aus Galle hatte bis jetzt folgendes Ergebnis:

Das künstliche Protophäophytin ließ sich, wie schon erwähnt, durch Verseifung in die freie Karbonsäure umwandeln, die sich von der Ausgangssubstanz scharf in ihrem spektralen Verhalten unterscheidet und

[1]) J. **Berzelius**, Annalen der Pharmazie, 27, 1838, S. 296.

andrerseits in dieser Hinsicht völlig identisch ist mit der freien Karbonsäure aus Phylloerythrin. Ebenso sind die aus beiden Säuren gewonnenen Methylester sowohl unter sich als auch mit den freien Säuren spektral völlig identisch.

Aus natürlichem Protophäophytin konnte bis jetzt die freie Karbonsäure nicht gewonnen werden, da deren saure Gruppen bei dem Verseifungsvorgang sofort durch eine irgendwie geartete Wasserabspaltung abgesättigt werden. Dieser Fall tritt auch beim Kochen des künstlichen Protophäophytins mit methylalkoholischer Salzsäure ein so, daß dieses Anhydroprodukt mit dem aus natürlichem Protophäophytin spektral identisch ist. Diese Tendenz zur Absättigung der freien Karboxylgruppen ist demnach am stärksten beim natürlichen Protophäophytin ausgebildet, womit auch die im Tierkörper vor sich gehende Absättigung der Karboxylgruppen bei der reduktiven Phylloerythrinbildung aus Chlorophyll verständlich wird, die ja mit Magnesiumabspaltung und Verseifung verbunden ist. Wenn es gelang, aus künstlichem Protophäophytin die freie Karbonsäure zu erhalten, so spricht dies dafür, daß die Reduktion in vitro zugleich eine gewisse Stabilisierung des Moleküls bewirkt, und daß die labilere Form gerade für die biologischen Produkte typisch ist.

Werden die freien Karbonsäuren oder ihre Methylester aus künstlichem Protophäophytin oder aus Phylloerythrin belichtet, so schlägt die schön rote Farbe in einigen Tagen in reines Grün um, wobei das für das Chlorophyll typische Rotabsorptionsband auftritt. Es handelt sich also dabei rückläufig um eine Photooxydation.

Zusammenfassend ergibt sich also für das Protochlorophyll, daß diese biologische Chlorophyllvorstufe eine Reduktionsstufe des Chlorophylls darstellt und schon Magnesium wie auch die Phytol- und Methylgruppe enthält.

Zu bemerken ist noch, daß kein Anhaltspunkt für die Existenz zweier Protochlorophyllkomponenten entsprechend dem Chlorophyll a und b gefunden wurde; ebensowenig konnte beim Protochlorophyll bei Behandlung mit Alkali eine vorübergehende Braunfärbung bemerkt werden, sodaß also auch die Möglichkeit der Allomerisation, die beim Chlorophyll auf die genannte Weise bewirkt werden kann, sehr unwahrscheinlich ist. Damit ist die obenerwähnte Tatsache vereinbar, daß sowohl die rein dargestellten Chlorophyllkomponenten a und b wie auch allomerisiertes Chlorophyll zu Protophäophytin unter Magnesiumabspaltung reduzierbar sind. Dies läßt gewisse Schlüsse auf die

Konstitutionsverhältnisse der beiden Chlorophyllkomponenten und ihrer allomerisierten Zustände zu, auf die hier nicht eingegangen werden soll.

Die Chlorophyllbildung aus Protochlorophyll in der lebenden Pflanze stellt demnach einen Oxydationsprozeß dar, und zwar einen Photooxydationsprozeß, da, wie früher erwähnt, zur Chlorophyllbildung in den meisten Fällen Licht nötig ist. Damit dürfte im Zusammenhang mit der in einem der vorigen Abschnitte erwähnten katalytischen Wirkung des Eisens bei Photooxydationsvorgängen die bisher unbekannte, aber unerläßliche Mitwirkung des Eisens bei der Ergrünung ihrer Erklärung zugeführt werden können. Dies würde zugleich einen bemerkenswerten Zusammenhang mit dem Chemismus der Kohlensäureassimilation bedeuten, wofern der Verfasser gemäß seinen früheren Ausführungen berechtigt ist, die von ihm nachgewiesene photooxydative, durch Eisensalze erhöhbare Leistungsfähigkeit des Chlorophylls mit der Kohlensäureverarbeitung in Zusammenhang zu bringen.

In reziproker Weise ist damit auch die Phylloerythrinbildung im Tierkörper nach Chlorophyllverfütterung auf eine chemische Basis gestellt, indem es sich hierbei um einen Reduktionsvorgang handelt, wie er in vitro unmittelbar nachgeahmt werden kann, und der sich vermutlich in der Leber abspielt. Derselbe Reduktionsvorgang findet in der Pflanze in den seltenen Fällen statt, in denen, wie in den oben erwähnten Kürbissamenhäuten, Protochlorophyll vorkommt, da in diesen Organen vor der Samenreife Chlorophyll nachweisbar ist.

Diese einfachen Beziehungen zwischen Protochlorophyll und Chlorophyll erklären auch die Tatsache, daß zuvor verdunkelte Pflanzen unter Umständen schon nach kürzester Belichtung zum Ergrünen kommen. Außerdem ist dadurch sichergestellt, daß das Protochlorophyll nicht, wie frühere Autoren behaupten, ein erst bei der Gewebezerstörung entstehendes, nicht mehr in Chlorophyll umwandelbares Seitenprodukt darstellt, sondern als die unmittelbare biologische Vorstufe des Chlorophylls anzusehen ist.

Mit diesen Ergebnissen ist zur weiteren Erforschung des Chemismus der Chlorophyllbildung und der damit zusammenhängenden Fragen eine Grundlage geschaffen, die der Verfasser nach der chemischen und biologischen Seite hin auszuwerten gedenkt.

Dabei ist zu beachten, daß die in verdunkelten Blättern vorhandenen

Protochlorophyllmengen so gering sind, daß sie für die bei Belichtung einsetzende Chlorophyllbildung nicht ausreichen können. Es ist demnach eine Art Gleichgewicht in verdunkelt aufgezogenen Blättern vorhanden derart, daß nach Photooxydation des vorhandenen Protochlorophylls ein weiterer Protochlorophyllnachschub erfolgt, der jedoch bei Belichtung sofort zu Chlorophyll oxydiert wird. Weiteres zu diesen Gedankengängen wird im nächsten Abschnitt ausgeführt werden.

Nebenbei wurde ein Farbstoff zur orientierenden Vergleichung herangezogen, dem die Rotalgen ihre Farbe verdanken, und der in diesen zugleich mit dem Chlorophyll in deren Chloroplasten vorkommt, das Phykoerythrin. Seine optischen Eigenschaften wie auch seine Fluoreszenz lassen die Vermutung zu, daß es sich hier vielleicht ebenfalls um einen Porphyrinabkömmling handelt, der infolgedessen nach Einführung von Magnesium in einen grünen Farbstoff übergehen könnte. Es ist jedoch an reinen, aus Helgoländer Rotalgen hergestellten Farbstoffpräparaten nicht gelungen, mittels der Grignardschen Reaktion zu einem grünen Farbstoff zu gelangen, so daß sich wenigstens auf diesem Wege keine Beziehung des in seiner Funktion noch völlig ungeklärten Phykoerythrins zu den Porphyrinen bzw. zum Chlorophyll herstellen läßt. Immerhin muß bemerkt werden, daß Lemberg[1]) mit dem Farbstoff die Urobilinreaktion erhielt und damit eine Verwandtschaft mit dem Chlorophyll für wahrscheinlich erachtet.

Nicht unerwähnt soll bleiben, daß der Verfasser bei heftiger Reduktion des Chlorophylls Farbstoffe erhält, die wie das Phykoerythrin gelbgrün fluoreszieren und auch im spektroskopischen Verhalten Ähnlichkeit mit diesem roten Algenfarbstoff zeigen. Vielleicht handelt es sich dabei um reduktive Aufspaltung des Tetrapyrrolrings. Jedoch ist diesen Fragen noch nicht nähergetreten worden.

Auch diese Untersuchungen werden nach der chemischen und physiologischen Seite fortgesetzt.

Zur Beziehung zwischen Blatt- und Blutfarbstoff

Der Nachweis der Reduzierbarkeit des Chlorophylls, bzw. des Phäophytins, zu roten Farbstoffen hat noch eine weitere Folgerung. Die freie Karbonsäure des künstlichen Protophäophytins und demnach

[1]) R. Lemberg, Annalen der Chemie 461, 1928, S. 46.

auch die des Phylloerythrins aus Rindergalle sind in ihrem spektralen Verhalten völlig analog den Porphyrinen aus Blutfarbstoff. Besonders mit dem Absorptionsspektrum des Protoporphyrins besteht die größte Ähnlichkeit, während die von Willstätter beim Chlorophyllabbau erhaltenen Porphyrine diesen Spektraltypus nicht zeigen. Dies wird mit den starken Eingriffen auf das Molekül zusammenhängen, die Willstätter anwenden mußte. Demnach läßt sich durch Reduktion des Chlorophylls, bzw. seines magnesiumfreien Derivates, des Phäophytins, die chemische Brücke zwischen Blatt- und Blutfarbstoff schlagen, die biologisch offenbar durch das Phylloerythrin gegeben ist. Wie früher erwähnt, läßt sich Phylloerythrin in der tierischen Galle nur nach Chlorophyllverfütterung nachweisen, wie auch die Phylloerythrinausbeuten aus Rindergalle bei der vorliegenden Untersuchung im Winter verschwindend gering waren.

Es läßt sich demnach vielleicht in Zukunft die schon manchmal geäußerte Vermutung einer Blutfarbstoffbildung aus Chlorophyll auf konkreter Grundlage behandeln, wobei das Phylloerythrin als biologische Brücke von Bedeutung werden kann. Der Verfasser gedenkt diesen Fragen weiter nachzugehen.

IV. Untersuchungen über den Magnesiumstoffwechsel der grünen Pflanzen

Die im vorigen Abschnitt geschilderten Untersuchungen können, wie aus ihren Ergebnissen hervorgeht, nur die letzten Stufen der Chlorophyllbildung erfassen, während es natürlich erstrebenswert ist, dem Aufbau der vorletzten Stufe, der des Protochlorophyllus, aus Stoffen, die noch keinen Farbstoffcharakter besitzen, näherzukommen. Nun stellen sowohl Chlorophyll als auch der Blutfarbstoff Pyrrolfarbstoffe dar, deren Grundstock aus vier Pyrrolringen besteht, und von denen eine Reihe einfacherer Abkömmlinge, die Porphyrine, genau bekannt ist. Diese wurden teils auf dem Wege des Abbaus erhalten, teils wurden sie von H. Fischer in erfolgreichster Weise synthetisch hergestellt. Als Ausgangssubstanz diente ihm dabei der Azetessigester, eine ganz allgemein für Synthesen wichtige Substanz, die auch im tierischen Organismus von Bedeutung ist. So kommt H. Fischer[1]) zur Folgerung, daß sich auch in der Natur die Synthese des Blutfarbstoffs bzw. des Chlorophylls aus Azetessigsäure und Ammoniak über

[1]) H. Fischer, Annalen der Chemie 448, 1926, S. 193.

die Pyrrole vollzieht. So wie für die endgültige Synthese des Blutfarbstoffes die Einführung von Eisen nötig ist, muß bei der Chlorophyllsynthese noch Magnesium ins Molekül eintreten, wenn von anderen konstitutionellen Unterschieden der beiden Farbstoffe abgesehen wird. Der Eintritt des Magnesiums stellt nun, wie die Ergebnisse des vorigen Abschnitts zeigen, nicht die letzte Stufe der Synthese dar, da ja das Protochlorophyll schon Magnesium enthält. Andererseits sind durch Oddo[1]) magnesiumhaltige Pyrrolverbindungen bekanntgeworden, verhältnismäßig einfache Körper, in denen also das für die Chlorophyllsynthese nötige Pyrrol zusammen mit dem Magnesium enthalten ist.

Demnach wäre es denkbar, daß schon in frühen Stadien der Chlorophyllsynthese magnesiumhaltige Chlorophyllvorstufen ohne Farbcharakter auftreten und auch in etiolierten Pflanzen nachweisbar sind.

Andrerseits ist es sicher, daß dem Magnesium außer seiner noch nicht im einzelnen klargestellten Funktion bei der Photosynthese andere Aufgaben im Pflanzenkörper zukommen, da das Magnesium auch für nicht grüne Pflanzen lebenswichtig ist. Nun sind bekanntlich organische Magnesiumverbindungen, die sogenannten Grignard-Verbindungen, ein außerordentlich wichtiges Hilfsmittel für die verschiedensten Synthesen im Laboratorium, so daß in Anbetracht der im Vergleich zum Tier ungleich größeren synthetischen Fähigkeiten der Pflanze es leicht möglich ist, daß organisch gebundenes Magnesium in der Pflanze ganz allgemein für Synthesen von Bedeutung ist.

Untersuchungen über diese Fragen liegen noch nicht vor, weshalb der Verfasser unter Mitarbeit des Herrn Rißmann orientierende Voruntersuchungen in dieser Richtung unternommen hat mit der Fragestellung, inwieweit organisch gebundenes Magnesium sowohl in grünen als in nichtgrünen, d. h. verdunkelt aufgezogenen Pflanzen vorhanden ist. Als Kriterium für organisch gebundenes Magnesium wurde der quantitativ erfaßte Magnesiumanteil betrachtet, der mit organischen Lösungsmitteln aus der Pflanze extrahierbar ist, ohne zugleich mit Wasser ausziehbar zu sein; etwaige Magnesium-Eiweißverbindungen usw. wurden also nicht berücksichtigt.

Da über den Mineralstoffwechsel in belichtet und verdunkelt auf-

---

[1]) B. Oddo, Reale Academia Nazionale dei Lincei. 5. Serie, Band 14, Fasc. 11, 1924.

gezogenen Pflanzen wenig bekannt ist, mußten die Untersuchungen auf eine breitere Basis gestellt, d. h. auch noch andere Elemente berücksichtigt werden, worüber hier jedoch nicht im einzelnen berichtet werden soll.

Zur Untersuchung kamen vornehmlich Weizen- und Haferkulturen, die im Hellen und Dunkeln unter sonst gleichartigen Bedingungen aufgezogen wurden.

Der Gesamtaschengehalt bei grünen Weizenblättern z. B. war, bezogen auf das Trockengewicht, mit durchschnittlich 11,43% 1,3mal höher als bei etiolierten Blättern mit durchschnittlich 8,63% Gesamtaschengehalt. Ebenso war der Magnesium- und Kalziumgehalt in grünen Blättern höher als in nichtgrünen, und zwar für beide Elemente um das zirka 1,6fache. Das Verhältnis CaO:MgO war mit 1:1,72 bzw. 1:1,74 bei Licht- und Dunkelblättern dasselbe.

Von Bedeutung war die Verteilung des Gesamtaschengehaltes und einzelner Aschenbestandteile auf die verschiedenen Zonen der ganzen Pflanze, worüber für Hafer und Weizen offenbar noch keine Angaben vorliegen. Getrennt analysiert wurden Wurzelsystem, oberirdischer Achsenteil, der außer der Achse die jungen Blattanlagen und die Scheiden der älteren Blätter umfaßt und im folgenden als Vaginalzone bezeichnet wird, und ferner die Blattspreite. Regelmäßig ergaben sich hierbei folgende grundsätzliche Unterschiede: Der Gesamtaschengehalt der Wurzeln ist bei grünen und etiolierten Pflanzen geringer als derjenige der Vaginalzone und der Blattspreite. Dagegen zeigten die CaO-, MgO- und SiO_2-Werte andere Verhältnisse, indem sie sich in Licht- und Dunkelpflanzen hinsichtlich ihrer Verteilung reziprok verhielten, wobei der Gesamtgehalt in Licht- und Dunkelpflanzen jedoch nahezu gleich war: In den Dunkelpflanzen zeigte sich sozusagen eine Stauung des Kalziums, Magnesiums und Siliziums in der Wurzel und in der Vaginalzone, während in den Lichtpflanzen die Blätter reicher an den genannten Elementen waren.

Was den Kali- und Phosphorgehalt betrifft, so wurde in Übereinstimmung mit älteren, sich auf Erbse und Saubohne beziehenden Angaben ein allerdings nicht bedeutender Mehrgehalt in etiolierten Blättern gegenüber Lichtblättern nachgewiesen.

Die Aufzucht in magnesiumfreien Nährböden bewirkte keine Herabsetzung des Magnesiumgehalts der Blätter, was dadurch zu erklären ist, daß nur junge Pflanzen zur Analyse Verwendung finden konnten, da nach zirka 24 Tagen die Versuchspflanzen allmählich eingingen

und im Samen auffallend hohe Magnesiummengen gespeichert sind. Bemerkenswert ist jedoch, daß der Kalziumgehalt der Blätter aus magnesiumfreien Kulturen fast das Doppelte des Normalwerts erreicht.

Auf dieser Grundlage wurde nun unter den eingangs erwähnten Gesichtspunkten eine Fraktionierung des Magnesium- und auch des Kalziumanteils in Weizenblättern vorgenommen, um auf dem Weg der Pflanzenextraktion das in organischen Lösungsmitteln lösliche Magnesium zu erfassen.

a) Der Gehalt an wasserlöslichem Magnesium und Kalzium: In Licht- und Dunkelkulturen überwiegt der Gehalt an wasserlöslichem Magnesium den des wasserunlöslichen, während umgekehrt in Licht- und Dunkelblättern der größere Teil des Kalziums in wasserunlöslicher Form vorliegt. Dabei ergibt ein Vergleich zwischen Licht- und Dunkelblättern, daß in den Dunkelblättern zirka ein Fünftel mehr wasserlösliches Magnesium vorhanden ist als in Lichtblättern, während der wasserlösliche Anteil des Kalziums in beiden Fällen der gleiche ist.

Es scheint demnach in den nichtgrünen Dunkelblättern für die Chlorophyllbildung eine gewisse Magnesiumreserve in Form wasserlöslicher Magnesiumverbindungen vorhanden zu sein.

b) Extraktion mit 5%iger Essigsäure löst fast den ganzen Kalzium- und Magnesiumanteil heraus, und zwar gemäß dem oben Gesagten so, daß der Extrakt grüner Blätter an beiden Elementen reicher ist als derjenige aus Dunkelblättern.

c) Extraktion mit Azeton oder Äther zeitigte gleichlautende Ergebnisse folgender Art: In allen Fällen wiesen Lichtblätter ein Mehr an azeton- bzw. ätherlöslichem Magnesium gegenüber Dunkelblättern auf, jedoch war auch in diesen ein verhältnismäßig beträchtlicher Gehalt an dieser Fraktion vorhanden. Eine Azetonextraktion von Haferblättern ergab beispielsweise folgende auf 100 g Trockensubstanz bezogene Werte:

0,067%	azetonlösliches	MgO	in	Dunkelblättern,
0,094%	„	MgO	„	Lichtblättern,
0,046%	„	CaO	„	Dunkelblättern,
0,038%	„	CaO	„	Lichtblättern.

Durch Kombination von Wasser- und Azetonextraktion in den beiden möglichen Reihenfolgen wurde sichergestellt, daß die azetonlöslichen Anteile nicht wasserlöslich sind.

Soweit das Magnesium in Frage steht, ergibt sich also, daß im Lichtblatt ungefähr um ein Drittel mehr azetonlösliches Magnesium vorhanden ist, so daß also auch in den Dunkelblättern eine beträchtliche Menge dieser Magnesiumfraktion vorkommt. Auf Grund der im vorigen Abschnitt mitgeteilten Befunde über den Magnesiumgehalt der im Dunkeln sich bildenden Chlorophyllvorstufe, des Protochlorophylls, ist dies zunächst auf den Protochlorophyllgehalt der Dunkelblätter zurückzuführen. Jedoch kann das Protochlorophyll nicht die einzige Quelle dieser Magnesiumfraktion sein, da der Protochlorophyllgehalt nichtgrüner Blätter weit geringer ist als der Chlorophyllgehalt derselben, im Licht aufgezogenen Blätter, und es ganz ausgeschlossen ist, daß das Verhältnis Protochlorophyll zu Chlorophyll dem für die Magnesiumwerte gültigen Verhältnis 2:3 entspricht. Damit kann es für erwiesen gelten, daß im nichtgrünen Blatt auch noch andere organische Magnesiumverbindungen als das Protochlorophyll vorhanden sind, wobei natürlich von azetonunlöslichen, organischen Magnesiumverbindungen, wie etwa Magnesium-Eiweißverbindungen, außer Betrachtung bleiben.

In Anbetracht der eingangs erwähnten Tatsache von der Lebensnotwendigkeit des Magnesiums auch für nichtgrüne Pflanzen könnte es sich, wie ebenfalls früher schon diskutiert wurde, um organische Magnesiumverbindungen handeln, die allgemein zu Synthesen nach Art der Grignardschen Reaktion Verwendung in der Pflanze finden. Daneben muß aber auch die Möglichkeit offengelassen werden, daß sich die Chlorophyllbildung auf dem Wege über noch farblose Zwischenstufen vollzieht, die jedoch schon Magnesium enthalten.

Die vorliegenden Untersuchungen mögen zeigen, wie vielseitig das Problem der Photosynthese gestaltet ist und wieviel Arbeit noch geleistet werden muß, um diese Fundamentalerscheinung im biologischen Geschehen der völligen Klärung zuzuführen.

V

Die Befreiung des Saatgutes von anhaftenden Mikroorganismen und ihre Bedeutung in Theorie und Praxis

Von Ernst G. Pringsheim, Prag

I. Einleitung

Die Beizung des Saatgutes spielt in der Landwirtschaft schon seit Jahrzehnten eine große Rolle und kommt neuerdings auch in der Gärtnerei in Aufnahme. Sie dient der Bekämpfung solcher Pflanzenkrankheiten, deren Erreger durch Keime, welche den Samen oder Früchten äußerlich anhaften, in das Keimbett, d. h. den Erdboden, verschleppt werden. Sie ist naturgemäß machtlos in allen anderen Fällen, z. B. wenn die Infektionskeime durch die Luft verbreitet werden, in der Erde überwintern oder das Innere des Samenkornes anstecken. Das Hauptanwendungsgebiet ist die Bekämpfung der Brandkrankheiten der Getreide. Bei anderen Krankheiten sind die Erfolge noch nicht so groß; doch ist auch so schon die Bedeutung der Beizung außerordentlich, und die Menge des Getreides, das vor der Aussaat mit Chemikalien behandelt wird, wächst von Jahr zu Jahr.

Während man anfänglich als Beizmittel leicht erhältliche Substanzen verwendet hat, deren keimtötende Kraft bekannt war, wie vor allem Kupfersulfat, Formaldehyd (= Formol oder Formalin) und andere, hat die chemische Industrie später auf Grund umfangreicher Versuchsserien für diesen Zweck besondere Substanzen herzustellen begonnen, die sich weit besser bewähren. Nachdem man mit Quecksilbersublimat aus noch zu erörternden Gründen keine gleichmäßig guten Erfahrungen gemacht hatte, ist es gelungen, in gewissen organischen Quecksilberverbindungen Beizmittel zu finden, welche die alten an Giftwirkung gegen die Pilzkeime und gleichzeitig an Unschädlichkeit gegen das Saatgut weit übertreffen. Darauf aber kommt es vor allem an, Mittel zu finden, welche auf die zwei Arten von ruhenden Pflanzenkeimen, nämlich die Sporen der Brandpilze und die Samen, so verschieden wirken, daß die einen abgetötet, die anderen aber in ihrer Keimkraft nicht geschädigt werden. Jedem Biologen

wird es klar sein, daß das keine leichte Aufgabe ist, denn die meisten Gifte wirken auf alle lebenden Zellen ungefähr gleichartig, nicht spezifisch.

So gefaßt hätten wir also ein ähnliches Problem vor uns wie das, welches P. Ehrlich sich stellte, als er Heilmittel suchte, welche gewisse Erreger und nur diese abtöten, die Körperzellen aber nicht, welche also spezifisch ätiotrop sind. Wie wir noch sehen werden, ist aber — unbeschadet einer ähnlichen Fragestellung bei Pflanzen, welche eine Aufgabe der Zukunft wäre — die Technik der Saatgutbeizung doch etwas wesentlich anderes und glücklicherweise leichteres, weil die Verhältnisse anders liegen. Denn der ruhende Same ist durch Hüllen geschützt, die das Eindringen der Beizgifte erschweren. Gerade in dieser Richtung liegen nun aber die Probleme, die noch keineswegs genügend erforscht zu sein scheinen, und auf deren chemische, physikalische und biologische Seite etwas näher einzugehen sein wird, weil sie die Grundlage zu einer Erforschung der Vorgänge bei der Beizung abgeben müssen, während uns die Praxis der Beizung, welche in einer umfangreichen Literatur niedergelegt ist, nicht weiter beschäftigen soll. Es kann sein, daß auch über die Probleme, die ich hier als offen darstelle, doch mehr Erfahrungen vorliegen, als mir bekannt ist. Manche Verbesserungen in den Methoden der Saatgutbeizung sprechen dafür; aber es war mir nicht möglich, die ganze, sehr zerstreute einschlägige Literatur durchzuarbeiten. Jedenfalls dürfte eine zusammenhängende Darstellung von seiten des Theoretikers nicht ohne Wert sein.

In der Medizin versteht man mit P. Ehrlich unter Therapia sterilisans magna die Abtötung sämtlicher Erreger einer Krankheit in den Geweben unter Schonung der Körperzellen. Darum kann es sich bei der Saatgutbeizung nicht handeln, und es ist etwas derartiges bei Pflanzenkrankheiten bisher nicht erzielt und überhaupt kaum versucht worden. Bei der Beizung begnügt man sich damit, die an den Samen (oder einsamigen Schließfrüchten, wie bei den Getreiden) außen anhängenden Krankheitskeime zu töten oder doch so zu schädigen, daß sie ihre Infektionskraft einbüßen. Neben den Bemühungen der Praktiker gingen nahezu unabhängig und unbeachtet die Versuche der Physiologen einher, von äußerlich keimfrei gemachten Samen ausgehend, eine aseptische Kultur von höheren Pflanzen zu erzielen. In der einschlägigen Literatur spricht man meist von einer Sterilisation der Samen (vgl. z. B. Klein und Kisser, 1924). Dieser Ausdruck ist insofern irreleitend, als der Samen selbst nicht „steril" wer-

den, sondern keimfähig bleiben soll. Bei der Sterilisation, also der Vernichtung jeden Lebens, bedient sich der Mediziner und Bakteriologe meist der Hitze. Die Abtötung nur der Krankheitserreger mit Hilfe hierfür erprobter Giftstoffe nennt man Desinfektion. Diese entspricht am meisten der Saatgutbeizung. Der Pflanzenphysiologe aber kann sich damit nicht begnügen. Er verlangt die Abtötung sämtlicher Mikroorganismenkeime, die sich an einem Objekt, z. B. den Samen befinden, für welches Vorgehen ich (Pringsheim, 1928, S. 208) die Bezeichnung Totaldesinfektion vorgeschlagen habe. Es ist nicht zu bezweifeln, daß etwas Ähnliches auch für den gärtnerischen oder landwirtschaftlichen Praktiker erstrebenswert werden kann, und daß überhaupt die entsprechenden Erfahrungen der Theoretiker und Praktiker verglichen und zur gegenseitigen Befruchtung verwertet werden sollten.

II. Die physikalisch-chemischen Grundlagen der Samendesinfektion

Die ursprünglich und leider teilweise auch heute noch verwendeten Beizmittel, wie Kupfersulfat, Formaldehyd u. a. hatten verschiedene große Fehler. Das erstere z. B. ist nicht wirksam genug, um die Pilzsporen sicher abzutöten; das letztere ist in genügender Konzentration zu giftig für die Samen selbst, so daß Einwirkungszeit und Stärke der Lösung sehr genau innegehalten werden müssen. In noch höherem Maße scheint das für das Sublimat zu gelten, das besonders von den Pflanzenphysiologen anfangs stark bevorzugt wurde, weil seine hervorragende keimtötende Wirkung bekannt war. Die Giftwirkung auf die Embryonen der Samen wird dadurch ermöglicht, daß es sich um einen Stoff handelt, welcher verhältnismäßig leicht durch die Samenhüllen hindurch diffundiert.

Die Saatgutdesinfektion hat es ja, im Gegensatz zur Chemotherapie, mit Zuständen von Organismen zu tun, die sich in einem latenten Leben befinden, die zunächst wenigstens lufttrocken sind und eine dichte, tote Hülle besitzen. Deren Eigenschaften in Beziehung zu dem im Wasser gelösten Desinfiziens sind maßgebend für den Erfolg. Wässerige Lösungen müssen angewendet werden, weil gasförmige oder in anderen Flüssigkeiten, wie z. B. Alkohol, gelöste Gifte auch auf die ja gleichfalls lufttrockenen Keime der Mikroorganismen in ganz ungenügender Weise wirken. Diese lange bekannte Tatsache wird gewöhnlich darauf zurückgeführt, daß das wasserarme Protoplasma solcher

Pflanzenteile, die an sich das Austrocknen vertragen, gegen Gifte resistenter sei als das wasserhaltige, lebenstätige. Inwieweit aber auch hier die Verhinderung des Eindringens bedeutungsvoll ist, wissen wir nicht und ist auch schwer zu erforschen. Ich konnte z. B. feststellen, daß aus gewissen eingetrockneten Flagellatenzellen mit Alkohol die Farbstoffe nicht ausgezogen werden können, obgleich sie darin an sich leicht löslich sind. Hier dringt also der Alkohol offenbar nicht ein.

Bei dem Problem der Samendesinfektion handelt es sich immer um zweierlei Organismen, und es kommt darauf an, so vorzugehen, daß der eine abgetötet, der andere nicht geschädigt wird. Wir sollten also die Wirkung des betreffenden Giftes auf beide in physikalischer und chemischer Hinsicht kennen. Wichtig hierfür ist:

1. die Resistenz beider Protoplasmaarten gegen das betreffende Mittel im trockenen und gequollenen Zustande;
2. die Geschwindigkeit, mit der die beiden Zellarten aus dem latenten in den lebenstätigen Zustand übergehen, wenn sie Gelegenheit haben, Wasser aufzunehmen;
3. die Durchlässigkeit der beiderseitigen Hüllen für das betreffende Gift und ihre zeitliche und quantitative Veränderung infolge der Aufnahme des Lösungsmittels;
4. die physikalischen und chemischen Eigenschaften des wirksamen Stoffes, z. B. Diffusibilität, Adsorbierbarkeit, Fällungsreaktionen mit Kolloiden, vor allem denen des Protoplasmas usf.;
5. die Möglichkeit, die Reste des Desinfiziens zu entfernen, damit es nicht nachträglich bei der Samenkeimung doch noch schädigt.

Punkt 1 ist mit unseren heutigen experimentellen Hilfsmitteln kaum aufzuklären. Punkt 2 bietet noch viele Probleme. Das erste Zeichen des wiedererwachten Lebens dürfte die Erhöhung der Atmungstätigkeit sein, welche an trockenen Reserveorganen sehr gering ist. In bezug auf Samen haben wir begonnen, dieser Frage nachzugehen. Es handelt sich darum, sehr kleine Atmungsgrößen in kurzer Zeit nachzuweisen. Die experimentellen Schwierigkeiten sind erheblich. Auf einer älteren Arbeit eines meiner Schüler fußend, wollten wir zunächst eine Indikatormethode benutzen, welche darauf beruht, daß die von einem Luftstrom mitgenommene Kohlensäure durch eine ganz schwach basische Flüssigkeit geleitet wird, die mit Phenolphtalein rot gefärbt ist. Durch die Kohlensäure wird dann die Flüssigkeit neutralisiert und infolgedessen entfärbt. Die Zeit, die dazu nötig ist, sollte den Maßstab für die Menge der abgegebenen Kohlensäure und

damit für die Stärke der Atmung liefern. Die Hindernisse erwiesen sich aber vorläufig als unüberwindlich. Erstens absorbiert eine so schwach alkalische Lösung die Kohlensäure nicht genügend, und zweitens erwies es sich als äußerst umständlich, eine Indikatorflüssigkeit von stets gleicher Zusammensetzung herzustellen. Eine Vorratslösung aber änderte ihren Titer, vielleicht durch Reaktion mit der Substanz des Glases. Wir sind daher dazu übergegangen, die Kohlensäure in einem Kaliapparat absorbieren zu lassen und zu wägen. Die Empfindlichkeit dieser Methode ist freilich geringer, denn unterhalb einer gewissen Gewichtszunahme sind die Fehler zu groß. Immerhin konnten wir mit Hilfe der auf diesem Prinzip beruhenden, ziemlich komplizierten Apparatur, bei welcher Temperatur, Luftstrom und Feuchtigkeitsverhältnisse aufs peinlichste konstant gehalten werden müssen, schon eine ganze Anzahl Messungen anstellen, welche die Aussicht eröffnen, das in Rede stehende Problem weitgehend zu klären. Wir hoffen, damit eine Methode gefunden zu haben, welche einen Einblick in den Lebenszustand quellender Samen gestattet, lange bevor die eigentliche Keimung einsetzt.

Die Empfindlichkeit der Wägemethode ist ungefähr 0,5 mg. Um diese zu erreichen, ist freilich schon eine große Sorgfalt nötig. Wenn Geiger (1928) angibt, bei ähnlichen Versuchen mit der Titrationsmethode nach Pettenkofer eine Genauigkeit von $^1/_{10}$ bis $^1/_{20}$ mg erreicht zu haben, so dürfte das, namentlich in Anbetracht der relativ konzentrierten Barytlösung, welche zur Absorption der Kohlensäure verwendet werden muß, auf Selbsttäuschung beruhen, wodurch übrigens der wesentliche Inhalt seiner Ergebnisse nicht in Frage gestellt wird. Auch bewirkt die Kohlensäure der Luft immer eine gewisse Störung. Aus diesem Grunde geben wir der Wägemethode, die noch dazu bequemer zu handhaben ist, den Vorzug.

Schließlich haben wir auch noch die Manometermethode für gewisse Versuche herangezogen, die durch Warburg in die Pflanzenphysiologie eingeführt worden ist. Wird in ein geschlossenes Gefäß, welches mit einem U-förmig gebogenen Glasrohr mit einer leichten Flüssigkeit versehen ist, etwas lebendes Material gebracht, so wird die Manometerflüssigkeit anzeigen, ob das Volumen des eingeschlossenen Gasgemisches größer oder kleiner wird oder konstant bleibt. Tun wir z. B. in das Gefäß einige keimende Samen und getrennt davon einige Tropfen Kalilauge, so wird die bei der Atmung entstehende Kohlensäure durch die Lauge absorbiert. Da gleichzeitig

Sauerstoff verschwindet, verringert sich das Volumen. Wird der Versuch bei konstanter Temperatur in einem Wasserthermostaten angestellt, so läßt die Volumenverminderung, die am Manometer abgelesen wird, auf die Menge des verbrauchten Sauerstoffes schließen[1]). Leider läßt sich diese ausgezeichnete und bequeme Methode nicht auf einfache Art mit einer Kohlensäurebestimmung verbinden. Dazu benötigt man wieder einen komplizierten Apparat. Wir sind aber dabei, eine geeignete Versuchsanstellung auszuarbeiten. Aus dem Sauerstoffverbrauch allein kann man nämlich nicht alles entnehmen, was man gern wissen möchte.

Vielfach handelt es sich darum, festzustellen, welche Menge Kohlensäure auf eine bestimmte Menge verbrauchten Sauerstoffs kommt. Wird Kohlenhydrat, z. B. ein Zucker, als Atmungsmaterial verbraucht, so ist das Volumen beider Gase gleich. Wird aber eine sauerstoffärmere Verbindung, z. B. Fett oder ein Alkohol, veratmet, so entspricht einer gewissen Menge Sauerstoff eine kleinere Menge Kohlensäure. Umgekehrt wird bei Sauerstoffmangel nur Kohlensäure produziert oder doch eine kleinere Menge Sauerstoff absorbiert, als dem entstehenden Kohlensäurevolumen entspricht. Beides kann bei Samen vorkommen. Der letztere Fall interessierte besonders. Werden nämlich stärkeführende Samen in Wasser eingequellt, so kommt es unter Wasser zu einem Sauerstoffmangel, was sich dadurch bemerkbar macht, daß die Keimung unterbleibt. Die meisten Versuche über die Atmung gequollener Samen sind aber bisher so angestellt worden, daß das Material erst längere Zeit in Wasser verweilte. Es zeigt sich dann im Atmungsversuch erst eine stärkere Kohlensäureabgabe, die dann allmählich zurückgeht, um erst später wieder anzusteigen. Wie Geiger (1928) gezeigt hat, unterbleibt diese Anomalie, wenn das Anquellen auf einer feuchten Unterlage vorgenommen wird, wobei die Samen gut mit Sauerstoff versorgt sind. Das gleiche haben wir gefunden. Während dieser ersten Periode herrscht Sauerstoffmangel. Die gebildete Kohlensäure entweicht erst allmählich nach Herstellung normaler Atmungsverhältnisse.

Werden die Samen auf einer feuchten Unterlage, z. B. Filtrierpapier, angequellt, so ist die Kohlensäureproduktion erst gering, um dann allmählich anzusteigen. Nach Beginn der Keimung nimmt sie noch erheblich zu, was durch die Entstehung größerer, den Gasaus-

[1] Durch ein Kompensationsgefäß wird dabei die Wirkung des wechselnden Barometerdruckes ausgeschaltet.

tausch bewirkender Oberflächen erklärt werden kann. Es fragt sich aber, ob nicht bei großen Samen, z. B. Erbsen, Pferdebohnen u. ä. im Innern immer ein Mangel an Sauerstoff herrschen wird? Wie es scheint, ist das nicht der Fall; aber diese Fragen können nur durch Versuche entschieden werden, in denen gleichzeitig Sauerstoffverbrauch und Kohlensäureabgabe bestimmt werden.

Wir haben nun auch versucht, den Manometerversuch in der Weise umzugestalten, daß die Kalilauge fortgelassen wird. Ist Sauerstoffverbrauch und Kohlensäureabgabe gleich, d. h. findet eine vollkommene Oxydation von Kohlenhydraten statt, so sollte man jetzt eine Konstanz des Innenvolumens erwarten, was sich im Gleichbleiben des Manometerstandes ausdrücken würde. Andererseits könnte man aus einer Veränderung des Manometerstandes schließen, daß eine solche Gleichheit nicht existiert, was wichtige Schlußfolgerungen erlauben würde. Leider ist die Anwendung der Methode nicht so einfach. Um nämlich zu verhindern, daß die gequollenen Samen austrocknen, muß man wenigstens ein paar Tropfen Wasser in das Atmungsgefäß geben. Dieses Wasser absorbiert aber einen Teil der angereicherten Kohlensäure. Und selbst, wenn man es fortläßt, so genügt die in die Samen aufgenommene Wassermenge, um etwas Kohlensäure zu verschlucken. Man kann diesen Fehler freilich dadurch verringern, daß man mit Kohlensäure angereichertes Wasser ins Atmungsgefäß tut; aber dessen Kohlensäurespannung wird nie der der Samen entsprechen, so daß eine neue Ungewißheit in die Versuche kommt. Immerhin konnten auf diese Weise einige auffallende Ergebnisse erzielt werden, über die später berichtet werden soll. Hier sei nur angedeutet, daß auch lufttrockene Samen bei dieser empfindlichen Methode eine Volumveränderung — Vermehrung des eingeschlossenen Luftvolumens — erkennen lassen, und zwar schon in kurzen Zeiten, die bisher nicht genügt haben, um einen Atmungsgaswechsel erkennen zu lassen. Dieses Ergebnis ist rätselhaft. Allerdings haben wir bisher nur bei einer Temperatur gearbeitet, die höher war als jene, in der die Samen vorher geweilt hatten, und es ist nicht völlig ausgeschlossen, daß dabei adsorptiv gebundene Gase entbunden worden sind. Aber tote Körper gaben in den Kontrollversuchen derartige Ausschläge nicht; das Volumen blieb völlig konstant. Weitere Versuche müssen unternommen werden, um diese Verhältnisse aufzuklären.

Was Punkt 3 anbelangt, so ist auch er nur für Samen resp. Früchte zugänglich, nicht für die kleinen Bakterien- und Pilzsporen. Um die

allgemeinen Gesetzmäßigkeiten für das Eindringen von Stoffen in das Innere von Samen usw. aufzuklären, haben wir zunächst mit Salzen gearbeitet, die sich analytisch leicht feststellen lassen, und ihren Einfluß auf die Quellung sowie den Konzentrationsausgleich zwischen der Außenlösung und dem Inneren des Samens untersucht. Auch hier ist es nicht leicht, zu übersichtlichen Ergebnissen zu kommen. Während wir das Nichteindringen der früher (Schröder 1910, 11, 15) geprüften Silbernitratlösung in gewisse Früchte, vor allem Getreidekörner, bestätigen konnten, verhielten sich Alkali- und Erdalkalisalze ziemlich unerwartet, nämlich anders, als es bei rein physikalischen Versuchen über Quellung von Kolloiden bekannt ist. Auffallend ist auch, daß manche Substanzen, wie z. B. Kochsalz, in quellende Samen ziemlich leicht eindringen, ohne die Keimung erheblich zu beeinträchtigen, während gleiche Konzentrationen, auf ausgebildete Pflanzenteile einwirkend, nicht in deutlicher Weise aufgenommen werden würden, aber durch ihre osmotische und chemische Wirkung große Schädigungen hervorrufen müßten.

Um diese Probleme noch mehr bei der Wurzel zu packen, schien es geboten, unsere Kenntnisse über die Vorgänge bei der Quellung von Samen überhaupt zu erweitern. Wir wissen nämlich noch wenig über den Weg, den das Wasser nimmt, über die Kräfte, welche das Einsaugen bewirken, über den Zusammenhang zwischen der chemischen Zusammensetzung der Samen und der Menge des aufgenommenen Wassers, über das Verhalten von Schale und Embryo, Zellwand und Inhalt beim Quellen.

Die Zellen in einem trockenen Samenkorn befinden sich in einem ganz anderen Zustand, als die vorläufig nahezu allein studierten in lebenstätigen, wasserreichen Geweben. Wir wissen noch nicht, inwieweit es zum Verständnis der bei der Samenquellung sich abspielenden Vorgänge genügt, sie homogenen Quellkörpern aus trockenen Gelen gleichzusetzen, wie sie die Kolloidchemiker verwenden, ob also dieselben Gesetzmäßigkeiten gelten wie bei trockener Gelatine, Agar-Agar oder dergleichen. Eine gleichförmige Beschaffenheit herrscht ja in Wirklichkeit nicht. Die Schale hat eine andere Zusammensetzung und einen anderen anatomischen Bau als die Teile des Keimlings und des Nährgewebes im Innern. Diese Teile kann man trennen und gesondert auf ihre Veränderungen beim Quellen untersuchen, woraus dann wieder auf das Ganze im Zusammenhang geschlossen werden kann.

Darüber hinaus aber besteht ein Same aus Zellen mit wechselndem

Inhalt an Stoffen, die bei der Wasseraufnahme verschieden wirken müssen, und mit Zellwänden, die gleichfalls Wasser einlagern und dabei Dicke und Gestalt ändern. Außerdem zeigt das lebende Protoplasma in wasserreichen Geweben bestimmte osmotische Eigenschaften, wie Durchlässigkeit für Wasser, aber Undurchlässigkeit für die meisten gelösten Stoffe. Diesen Zustand gewinnt es bei der Quellung und Keimung erst allmählich, und wir wissen nicht, wie der Übergang von dem trockenen, hornartigen in den wasserreichen, gel- bis solartigen sich vollzieht, wobei es nicht nur selbst Wasser aufnimmt, sondern auch bestimmend sein muß für die Art, wie Wasser und gelöste Stoffe ins Innere der Zelle gelangen. Studien über die Veränderung der Zellen während der Keimung, von mir schon vor langen Jahren angestellt, haben sich als schwierig erwiesen, weil die üblichen Präparationsmethoden, wie Fixierung und Färbung der Schnitte, hierbei versagen.

Bei der Quellung der Samen spielen die Reservestoffe eine besondere Rolle, an denen die Samen so reich sind, denn sie nehmen zweifellos die Hauptmenge des Quellwassers auf. Schon ein Vergleich der Menge des Wassers, das bei der Quellung aufgesaugt wird, zeigt die große Verschiedenheit der Samen verschiedener Arten. Es lassen sich dabei gewisse Gesetzmäßigkeiten erkennen. Wenn wir absehen von der Wasseraufnahme durch besondere Quellschichten der Samenschale, wie wir es bei Lein-, Kresse-, Quittensamen und vielen anderen finden, so zeigt sich im allgemeinen, daß z. B. stärkereiche Samen weniger quellen als eiweißreiche, besonders die der Leguminosen, unter denen die stärkefreien Lupinen an erster Stelle stehen. Die Frage lautet also: In welcher Beziehung steht die maximale Wasseraufnahme und die Geschwindigkeit der Quellung zu der Zusammensetzung und der Menge der Reservestoffe?

Bei den hierauf gerichteten Untersuchungen zeigte es sich bald, daß die Samen verschiedener Pflanzenarten sich in zu vielen Punkten unterscheiden, um die an sich aussichtsreichste vergleichende Methode anzuwenden. Besser gelang das schon bei der Heranziehung verschiedener Sorten einer Art, wozu Erbsen verwendet wurden. Beziehungen zwischen chemischer Zusammensetzung und Quellungskraft waren hier unverkennbar. Noch besser schien es uns, die Samen *einer* Art, welche sich ja auch immer in bezug auf beide genannten Eigenschaften unterscheiden müssen, für diese vergleichenden Versuche zu verwenden, wofern das eben möglich wäre. Eine chemische Analyse einzelner Samen nach Feststellung ihres Quellvermögens kam prak-

tisch nicht in Frage. Wir fanden aber im spezifischen Gewicht ein Anzeichen, auf Grund dessen die Samen, unter gleichzeitiger Berücksichtigung ihrer Größe, sortiert werden können, ohne daß sie dabei geopfert werden müssen. Und das spezifische Gewicht steht seinerseits in Beziehung zur chemischen Zusammensetzung und zur Quellbarkeit.

Die Bestimmung des spezifischen Gewichtes kann in der Weise vorgenommen werden, daß man das Gewicht und das Volumen feststellt, letzteres unter Verwendung einer für trockene Samen indifferenten, keine Quellung bewirkenden und nachher leicht verdunstenden Flüssigkeit, wie Alkohol oder Benzol. Einfacher und für unsere Zwecke aus verschiedenen Gründen geeigneter war die Sortierung mit Hilfe von Chlorkalziumlösungen verschiedenen Gehaltes, deren Dichte mit Hilfe eines großen Pyknometers bestimmt wurde. Diese Behandlung bewirkte bei sofortigem Nachwaschen und Trocknen keine Veränderung der Keimfähigkeit und Quellbarkeit. Bei einer Samenprobe von Lupinus albus zeigte sich, daß die Mehrzahl der Samen ein mittleres spezifisches Gewicht hatten, und daß von da nach den Extremen die Menge immer mehr abnahm, also eine ganz normale Wahrscheinlichkeitskurve, wie sie für andere Eigenschaften, z. B. die Größe von Samen, schon oft gefunden worden ist. In anderen Fällen waren Andeutungen einer Zweigipfeligkeit der Häufigkeitskurve zu bemerken, die auf die Zusammensetzung des Materiales aus zwei Sorten hindeutete. Wir glauben, daß diese Art der Auslese nach dem spezifischen Gewicht möglicherweise Bedeutung für den Züchter, z. B. von Braugerste, gewinnen kann. Ihr Vorteil bestände neben der großen Einfachheit darin, daß dasselbe Korn, welches untersucht worden ist, noch zur Aussaat verwendet werden kann, was bei chemischer Analyse nicht der Fall ist. Unter Umständen kann dadurch außer der weitaus größeren Arbeit, welche die Analyse bedeutet, noch ein Jahr gespart werden. Denn analysieren kann man nur einen Teil der Nachkommenschaft eines Kornes, um den anderen zur Weiterzucht zu verwenden.

Die Beziehungen zwischen spezifischem Gewicht, Zusammensetzung und maximaler Wasseraufnahme waren ziemlich eindeutig. Die Quellung war um so stärker, je mehr wasserlösliche Stoffe das Samenpulver abgab und je geringer das spezifische Gewicht war. Das gilt zunächst für Lupinen und Erbsen gleicher Ernte. Es wird aber bestätigt durch die Untersuchungen an verschiedenen Erbsensorten und an Bohnen. Versuche mit Gerste und Weizen sollen noch angestellt werden. Die gesetzmäßige Abnahme der Quellung mit Zunahme des

spezifischen Gewichtes zeigte sich schon, wenn nur der aus 45%iger Schwefelsäure abgegebene Wasserdampf zur Verfügung stand, wo also eine Auslaugung oder eine chemische Veränderung nicht in Betracht kam.

Eine gekürzte Tabelle nach den Ergebnissen von Herrn Ingenieur Neumann möge das Gesagte deutlicher machen. Es handelt sich um vier nach dem spezifischen Gewicht sortierte Proben aus einem Material von Lupinus albus. Alle Angaben sind in Gewichtsprozenten der lufttrockenen Substanz gemacht.

1. Spezifisches Gewicht der Samen	1,12—1,16	1,16—1,20	1,20—1,24	>1,24
2. Wassergehalt der lufttrockenen Samen	7,61	7,66	7,64	7,45
3. Wassergehalt nach Verweilen über 45prozentige Schwefelsäure	8,10	8,06	8,04	8,03
4. Wassergehalt nach maximaler Quellung	145	144	139	137
5. In Wasser löslich	42,40	37,45	35,82	34,97
6. In Wasser unlöslich	49,76	53,29	54,11	55,06
7. Lösliche Kohlehydrate, bestimmt mit Fehling nach Hydrolyse	11,48	10,21	5,34	4,81
8. Gesamte Kohlehydrate (außer Rohfaser), ebenso	22,41	22,74	22,96	23,81
9. Gesamtprotein, berechnet aus N×6,25	40,78	40,01	40,78	41,06
10. In Wasser unlösliches Protein	21,84	24,62	25,52	26,33
11. Lösliches, durch Kochen fällbares Protein	7,31	5,22	5,14	4,81

Die Summe von 2, 5 und 6 ergibt ungefähr 100%. Der Wassergehalt der lufttrockenen Samen (2) stellt keine mit der Dichte fallende oder steigende Reihe dar, wohl aber der nach Verweilen in einer Atmosphäre von konstanter Feuchtigkeit (3) und der nach längerem Liegen in Wasser bis zur maximalen Quellung (4). Der Gang dieser beiden Reihen erscheint zwar gering. Er ist aber immer vorhanden und wird weit deutlicher, wenn das Samenmaterial in eine größere Anzahl von Portionen von verschiedenem spezifischem Gewicht geteilt wird. Nur sind die Extreme in zu geringer Menge vorhanden gewesen, als daß sich eine chemische Untersuchung hätte durchführen lassen. Dies ist nur eine Materialfrage. Die weiteren, nach Ver-

mahlen gewonnenen Werte zeigen ebenfalls deutliche Beziehungen. Der wasserlösliche Anteil des Pulvers nimmt mit steigender Dichte und sinkender Quellbarkeit ab, der unlösliche zu (5 und 6). Die löslichen Kohlenhydrate (7) und Proteinstoffe (11) verhalten sich wie die Gesamtheit der löslichen Stoffe. Die unlöslichen Kohlenhydrate (8) zeigen einen schwachen, die unlöslichen Proteine (10) einen stärkeren entgegengesetzten Gang, während die Menge des Gesamtproteins keine deutliche Beziehung aufweist (9).

Weiter wurde beobachtet, daß bei den an Größe ziemlich verschiedenen Lupinen sowohl die spezifisch leichtesten wie die schwersten Fraktionen aus vorwiegend kleinen Körnern bestanden. Die Samenpulver zeigten in Übereinstimmung mit den ganzen Samen eine Abnahme der Quellfähigkeit im Dampfraum mit steigendem spezifischem Gewicht der Samen, aus denen die Mehle gewonnen waren. Dadurch ist bewiesen, daß nicht Luftgehalt oder Beschaffenheit der Schale für dieses Verhalten maßgebend sind.

Zu Punkt 4 ist wieder wenig Material vorhanden. Ich fand auch nicht die gehoffte Unterstützung bei den einschlägigen chemischen Fabriken. Es ist zu vermuten, daß sie sich von einer theoretischen Erforschung dieser, wie mir scheint, für das Problem der Beizwirkung grundlegenden Verhältnisse nicht genug versprechen, um ihre Fabrikgeheimnisse aufs Spiel zu setzen. Neu synthetisierte Beizstoffe werden meist gleich in groß angelegten, der Praxis angepaßten Beizversuchen erprobt. Ein Fingerzeig, welche Eigenschaften maßgebend sind, kann auf diese Weise schwer gefunden werden. Ich gestehe aber, daß ich die fabrikatorischen Verhältnisse nur oberflächlich beurteilen kann.

Soviel scheint mir wahrscheinlich, daß die neuen Beizmittel, wie z. B. Uspulun und Germisan, beides organische Quecksilberverbindungen, weniger diffusibel sind als Quecksilbersublimat. Damit hängt es zusammen, daß sie weniger leicht ins Innere der Samen eindringen und deshalb unschädlicher sind. Gleichwohl müssen sie aber imstande sein, die Mikroorganismenkeime unschädlich zu machen. Das kann daher kommen, daß diese stärker giftig wirkende Verbindungen abspalten. Warum sollten das aber die Gewebszellen der Samen nicht auch tun? Ich glaube, wir werden der Lösung der Fragen am schnellsten näherkommen, wenn wir zunächst von einer spezifischen Verschiedenheit der Protoplasmaeigenschaften der beiden Organismen absehen und mehr die anatomischen und physikalischen Verhältnisse ins Auge fassen.

Wir wissen, daß die Widerstandsfähigkeit ruhender Pflanzenkeime, wie Samen, Pilz- und Bakteriensporen, trockener Moose usf. mit der Wasseraufnahme sehr stark sinkt. Dies gilt allgemein für alle Schädigungen, mögen sie durch Hitze, Gifte, Licht oder andere Einwirkungen zustande kommen. Die Quellung und damit das Wiedererwachen des Lebens, gekennzeichnet durch das Ansteigen der Atmung, die Produktion von Enzymen, die Lösung von Reservestoffen, die Teilung und das Wachstum der Zellen usf., macht also das physiologische System bedeutend labiler. Und da es durch so verschiedene Störungen in seinen Funktionen beeinträchtigt werden kann, müssen wir annehmen, daß hierbei tatsächlich Eigenschaften des lebenden Protoplasmas maßgebend sind, denn z. B. Hitze kann nicht durch die Hüllen ferngehalten werden. Damit müssen wir also auf jeden Fall rechnen.

Wenn wir aber mit chemischen Mitteln arbeiten, was hier allein in Betracht kommt, so müssen wir außerdem die Umstände berücksichtigen, unter denen diese Substanzen an das Protoplasma herankommen. Diese Bedingungen sind nun aber für die kleinen Sporen der Mikroorganismen mit ihren dünnen Zellhäuten ganz anders als für die Samen, welche in ihrer Schale eine kräftige Schutzhülle besitzen. Selbst wenn diese in ihren qualitativen physikalischen Eigenschaften von denen der Sporen nicht erheblich abwiche, würde ihre Mächtigkeit ein langsameres Durchdringen von Wasser und darin gelösten Stoffen auf dem Wege der Diffusion bewirken. Dazu kommt noch die vergleichsweise sehr viel kleinere Oberfläche. Tatsächlich finden wir auch, daß selbst die schnellst quellenden Samen von gewissen Sporen übertroffen werden, wobei abgesehen wird von den recht häufigen Fällen, in denen besondere Verhältnisse eine Verzögerung der Wasseraufnahme und damit auch der Keimung bewirken.

Es ist also wohl nicht zu gewagt, mit diesen Verschiedenheiten unserer beiden Klassen lebender Objekte gleichfalls zu rechnen. Dann wird aber die zunächst auffallende Tatsache dem Verständnis nähergerückt, daß die als so widerstandsfähig geltenden Sporen der Bakterien und Pilze durch Chemikalien geschädigt werden können, welche den Embryo im Samen nicht vergiften. Die Möglichkeit dazu wäre also — abgesehen von allen spezifischen Eigenschaften des Protoplasmas — durch die Tatsache gegeben, daß der wirksame Stoff erst an den Ort seines Wirkens gelangen muß, was nur durch Diffusion geschehen kann und deshalb eine gewisse Zeit braucht. Diese Arbeitshypothese läßt die physikalischen Eigenschaften der Beizmittel als

sehr bedeutungsvoll erscheinen, denn bei gleicher Giftwirkung auf beide Protoplasmaarten würde der langsamer diffundierende Stoff zwar auch die Sporen langsamer abtöten; aber er würde den größeren Weg durch die Samenschale in so viel längerer Zeit zurücklegen, daß eine rechtzeitige Unterbrechung des Beizprozesses keine Schwierigkeiten machen würde. Bei schnell diffundierenden Giften dagegen wäre der zeitliche Abstand zwischen der Abtötung der Sporen und der der Embryonen in den Samen so klein, daß, wenn überhaupt, nur eine sehr genaue Innehaltung der erprobten Beizdauer zu einem Erfolg führen könnte. Da außerdem nicht nur jede Samenart, sondern sogar jede Sorte, z. B. von Getreide, etwas andere Verhältnisse bieten wird, müßte die Beizdauer immer von neuem erprobt werden. Dadurch wäre mancher Mißerfolg mit Totbeizen und die mangelnde Übereinstimmung der Angaben verständlich gemacht.

Außer der Diffusionsgeschwindigkeit muß auch die Adsorbierbarkeit der Beizstoffe eine Rolle spielen. Ein kolloidaler Stoff, wie ihn die modernen Quecksilberbeizen darzustellen scheinen, wird sich auch dieser Hinsicht anders verhalten als das rein kristalloide Sublimat. Durch die Adsorption wird einerseits das Eindringen durch eine gequollene Membran beeinflußt, andererseits an der Oberfläche des zu beizenden Samens eine Imprägnierung bewirkt, welche bei der späteren Verbringung ins Keimbett weiter wirkt, indem der so geschaffene Vorrat an Schwermetallverbindung durch allmähliche Mobilisierung auf die etwa noch auskeimenden Mikroorganismen einwirken kann.

Außer der physikalischen Adsorption muß auch die chemische Fällbarkeit von Bedeutung sein. Vor allem wird die gegenseitige Ausfällung mit Kolloiden, wie sie im Protoplasma vorherrschen, die Giftwirkung bedingen. Hierbei vor allem spielt ferner auch die Reaktion der Lösung eine Rolle, welche z. B. beim Sublimat sauer, beim Uspulun aber — wahrscheinlich durch absichtlichen Zusatz — basisch ist.

Punkt 5 bezieht sich auf die Nachwirkung des angewandten Desinfiziens und ihre Unterbrechung durch die Eigenschaften des gelösten Stoffes selbst nach Beendigung der Beizung oder durch besondere Maßnahmen, wie Auswaschen, Abschleudern und Ausfällen durch bestimmte „Gegenmittel". Eine solche Nachbehandlung erwies sich in meinen ausführlichen Laboratoriumsversuchen zur Erzielung keimfreien Saatgutes (Pringsheim, 1928, S. 238) als zweckmäßig nach der Desinfektion mit Silbernitrat und Brom, wozu im ersteren

Falle Kochsalz, im letzteren Natriumthiosulfat verwendet wurde, während bei Uspulun ein einfaches Auswaschen genügte. In der großen Praxis sieht man im allgemeinen aus Gründen der Ersparung von Arbeit von solchen Nachbehandlungen ab, wobei auch die Nachwirkung im Keimbett als besonders erwünscht bezeichnet worden ist. Aber es ist klar, daß auch hier eine ganze Anzahl, teils physikalisch-chemischer, teils physiologischer Probleme vorliegen, wenn wir diese entschieden nicht mehr zeitgemäße Unterscheidung überhaupt noch beibehalten wollen.

So möchte man gern wissen, in welcher Weise die Adsorption respektive Imprägnierung der Samenschale oder Fruchtwand vor sich geht und ob die betreffende Substanz sich im Bodenwasser noch lösen und dadurch einen Einfluß auf die Keimung ausüben kann. Die oft behauptete und unter Umständen sicher bestehende „Stimulation", d. h. Förderung der Keimung und des Wachstums durch eine Behandlung des Saatgutes, ist wohl nur auf diese Weise zu verstehen. Von der echten Stimulation, welche durch Einwirkung auf das Protoplasma des Keimlings zustande kommt, habe ich (Pringsheim, 1928, S. 217) eine Scheinstimulation unterschieden und eine indirekte. Die erstere wird durch Förderung der Wasseraufnahme, die letztere durch Unterdrückung schädlicher Mikroorganismen, welche der Samenschale anhaften oder sich im Keimbett entwickeln, hervorgerufen. Es ist wahrscheinlich, daß das niedergeschlagene Desinfiziens durch gewisse Bakterien oder Pilze wieder mobilisiert werden kann, die sich dadurch selbst vergiften, ähnlich wie es für Spritzmittel angenommen wird, die man zur Unterdrückung von Pilzkrankheiten verwendet, also etwa die Kupfer-Kalk-Brühe.

III. Ergebnisse der Versuche über Totaldesinfektion von Samen

Bei der Durchführung meiner Versuche war ich bestrebt, eine völlige Abtötung der den Samen und Trockenfrüchten anhaftenden Mikroorganismenkeime, also eine Totaldesinfektion zu erzielen, dabei aber nach Möglichkeit mit einfachen experimentellen Hilfsmitteln zu arbeiten. Denn nur auf diese Weise konnte ein allgemeinere Einführung der ausgearbeiteten Methode und eine breitere Verwendung in pflanzenphysiologischen Versuchen angebahnt werden. Alle verwickelteren Apparate, welche die Kosten erhöhen, die Schnelligkeit des Arbeitens vermindern und die Zahl der zu desinfizierenden Samen beschränken, kamen für meine Zwecke nicht in Betracht.

Um dieses Ziel zu erreichen, lehnte ich mich an die bakteriologische Technik an. Die Erfahrung im bakteriologischen Arbeiten lehrte, daß die gefürchteten Infektionen mit Keimen aus der Luft nicht die Bedeutung haben, die ihr manche Pflanzenphysiologen zuschreiben. Bei entsprechend sauberem und schnellem Arbeiten kann die Luftinfektion, auch ohne besondere Hilfsmittel, auf ein Minimum herabgesetzt werden. Auch sind die im Staub vorkommenden Arten von Pilzen und Bakterien von den am Saatgut haftenden zu unterscheiden. Nötigenfalls ist die Luftflora im Arbeitsraum zu studieren.

Auf Grund dieser Überlegungen wurde auf einem gewöhnlichen Arbeitstisch mit den üblichen Glasgeräten des Mikrobiologen, nämlich Erlenmeyerkolben und Reagensgläsern gearbeitet, welche natürlich vor Gebrauch durch Hitze sterilisiert wurden. Um die desinfizierten Samen ohne Neuinfektion aus einem Gefäß in ein anderes zu übertragen, verwendete ich ausglühbare Geräte aus Nickeleisendraht, der einen ausreichenden Ersatz für Platindraht abgibt. Für ganz kleine Samen wurde die Spitze eines Drahtes breit geklopft, für größere wurden löffelartig gebogene Drahtspiralen und -ösen verwendet, die alle in geeigneten Haltern (nach Kolle) befestigt wurden. Bei der Übertragung wurden die Gefäße so gehalten, daß sich ihre Hälse möglichst dicht nebeneinander und in horizontaler Stellung befanden, um das Hineinfallen von Staub tunlichst zu vermeiden.

Der Arbeitsgang war nun der folgende: Nach kurzer Behandlung mit Alkohol und Wasser in nicht sterilen Gefäßen wurden die abgezählten Samen in einen sterilen Kolben mit der Desinfektionslösung getan und bei einer bestimmten Temperatur durch eine verschiedene Zeit deren Einwirkung überlassen. Darauf wurde die Giftlösung abgegossen und durch Wasser oder eine das Gift ausfällende Lösung ersetzt. Nach gründlichem Abspülen, immer unter Vermeidung von Luftinfektion und unter Verwendung steriler Gefäße und Flüssigkeiten sollte die Samenprobe auf Keimfähigkeit und auf Abwesenheit von Mikroorganismen geprüft werden. Diese beiden Proben wurden getrennt vorgenommen.

Mit den erwähnten Drahtinstrumenten wurde eine bestimmte Anzahl von Samen in eine Nährlösung getan, die für die Entwicklung der meisten Bakterien und Pilze geeignet war. Als solche wurde eine neutrale Bouillon aus Fleischextrakt und Pepton mit einem Zusatz von Traubenzucker verwendet. Vier Röhrchen wurden mit je zwei Samen beschickt. Die Sterilitätsproben wurden 3 Wochen lang bei

30° gehalten. War dann keine Entwicklung von Bakterien und Pilzen zu erkennen, so wurde angenommen, daß ihre Abtötung in der erwünschten Weise gelungen war.

Der ganze Versuch konnte aber nur dann als geglückt betrachtet werden, wenn die Samen ihre Keimfähigkeit behalten hatten. Um das festzustellen, kamen 50 Körner auf ein Keimbett bei 24°, wobei immer eine Kontrolle mit ebenfalls 50 Samen angesetzt wurde, welche anstatt in der Desinfektions- und der Nachbehandlungsflüssigkeit dieselbe Zeit in nicht sterilem Wasser gelegen hatten. Das Keimbett wurde in der Weise bereitet, daß die verwendete Filtrierpapierunterlage immer gleiche Feuchtigkeit behielt. Zu dem Zweck wurden runde Papierstücke auf umgekehrte kleine Kristallisierschalen gelegt, welche in größeren Deckelschalen mit etwas Wasser am Boden Platz fanden und durch dochtartig wirkende Filtrierpapierstreifen von unten her mit Wasser versorgt. Die gekeimten Körner wurden täglich gezählt und entfernt.

Die Hauptergebnisse der bisherigen eingehenderen Versuche im Laboratorium über Totaldesinfektion von Samen sind die folgenden:

Die meist als nützlich oder sogar notwendig angegebene Vorbehandlung mit entfettenden oder benetzenden Flüssigkeiten, welche die Einwirkung des Desinfiziens auf die Samenoberfläche erleichtern soll, ist vielfach überflüssig oder sogar schädlich. Dasselbe gilt von den Versuchen, die Benetzung durch Auskochen unter vermindertem Druck bei 35—40° zu erzielen. Doch gibt es auch Fälle, d. h. Samenarten, bei denen eine Vorbehandlung tatsächlich notwendig ist, um eine sichere Desinfektion zu erzielen. Hierzu hat sich am besten der Alkohol bewährt, der nur ganz kurze Zeit einwirken muß und dann durch Wasser entfernt wird. Auffallend ist, daß manche Samen und besonders Früchte, wie die von Hanf, Sonnenrose und Gerste, trotz ihrer dicken Schalen durch Alkohol stark geschädigt werden.

Als chemische Mittel zur Abtötung der den Samen anhaftenden Keime sind die folgenden bisher in größerem Maßstabe geprüft worden: Kupfersulfat, Sublimat, Brom, Silbernitrat, Chlorkalk und Uspulun. Von den beiden ersten ist oben schon gesagt worden, aus welchen Gründen sie sich nicht bewähren. Die anderen können alle Verwendung finden, doch ist ihre Eignung bei verschiedenen Arten von Saatgut durchaus nicht gleich. Es sind von mir gegen 30 Arten geprüft worden, manche in mehreren Sorten und Ernteproben. Sie gehörten den verschiedensten Pflanzenfamilien an, aber mit Bevor-

zugung der leicht keimenden und praktisch wichtigen, vor allem der Gramineen (Getreide), dann auch der Leguminosen und Kruziferen. Meine eigenen Versuche erstrecken sich auf Silbernitrat, Brom und Uspulun. Die beifolgende Tabelle gibt eine Übersicht. Die Versuche unter „Chlor" sind von Dr. A. Niethammer in meinem Institut mit Chlorkalk angestellt worden. Es bedeutet:

+ = Totaldesinfektion gelungen; — = nicht gelungen;
S = schwache Schädigung; F = Förderung.

Familie	Art	$AgNO_3$	Brom	Uspulun	Chlor
Cannabinaceae	*Cannabis sativa*	+	+ F	—	
Caryophyllaceae	*Stellaria media*		+		
Compositae	*Helianthus annuus*	+ S	+ S	—	
Convolvulaceae	*Convolvulus tricolor*	+	+	—	
Cruciferae	*Brassica Napus*	—	+	+	+
"	*Draba verna*			+	
"	*Lepidium sativum*	—	—	—	
"	*Sinapis alba*	—	—	+	+
Cucurbitaceae	*Cucumis sativus*	+	—	+	
Gramineae	*Avena sativa*	+	—	+	
"	*Hordeum vulgare*	+ S	—	—	—
"	*Panicum miliaceum*	+ S	—	+ S	
"	*Phalaris canariensis*	+	—	—	
"	*Secale cereale*	+ S	—	—	+
"	*Triticum sativum*	+	—	+ ?	+
"	*Zea Mays*	+	+	+	
Linaceae	*Linum usitatissimum*	+	+	+	+
Lobeliaceae	*Lobelia erinus*	+	+	—	
Myrtaceae	*Eucalyptus globulus*	+	+ S	+	
Papaveraceae	*Papaver somniferum*	+ F	—	+ S	+
Papilionaceae	*Lupinus albus*	+	—	+	—
"	*Phaseolus vulgaris*	—		—	+
"	*Pisum sativum*	+ S	—	+	+
"	*Vicia Faba*	+	+ ?	+	—
"	*Vicia sativa*	+	+	+	
Polygonaceae	*Fagopyrum esculentum*	+ S	—	—	
Scrophulariaceae	*Mimulus cardinalis*	+	+	+	

Man ersieht daraus vor allem, daß nahezu alle geprüften Arten mit einem oder mehreren der Desinfektionsmittel vollkommen von anhaftenden Mikroorganismen befreit werden konnten, freilich nicht

immer ohne eine gewisse Verschlechterung der Keimfähigkeit. Als gelungen wurde ein Versuch dann angesehen, wenn die Samen nicht wesentlich schlechter keimten als ohne Behandlung, und wenn eine in Zuckerbouillon gebrachte Probe nach Ablauf mehrerer Wochen keine Entwicklung von Pilzen oder Bakterien ergab.

Auffallend ist die Tatsache, daß die verschiedenen Arten sich gegen die verschiedenen Mittel so ungleich verhielten. Eine Beziehung zur chemischen Zusammensetzung oder zum anatomischen Bau der Samen konnte nicht gefunden werden. Doch ist es deutlich, daß die Arten einer Familie sich teilweise ähnlich verhalten. So lassen sich die Getreidekörner am besten mit Silbernitrat, die Samen der Kruziferen mit Uspulun desinfizieren.

Zu einem sicheren Urteil über den Wert der verschiedenen Mittel reicht das vorhandene Versuchsmaterial trotz recht breiter Unterlagen noch nicht aus. Dennoch habe ich versucht, durch statistische Berechnung einen Überblick zu bekommen.

Mit	$AgNO_3$	wurden	geprüft	24	Arten,	davon desinfiziert	21 = 87%
„	Brom	„	„	26	„	„ „	12 = 46%
„	Uspulun	„	„	26	„	„ „	17 = 65%
„	Chlorkalk	„	„	11	„	„ „	8 = 73%

Somit schneidet von den in dieser Arbeit geprüften Stoffen das Silbernitrat am besten, das Brom am schlechtesten ab. Das kann Zufall sein; es macht aber nicht den Eindruck.

Jedenfalls hat man jetzt die Möglichkeit, unter verschiedenen Desinfektionsmitteln zu wählen, wenn die Aufgabe vorliegt, eine bestimmte Samenprobe keimfrei zu machen, und man hat Aussicht zum Ziele zu kommen, wenn man sich die in meiner Arbeit niedergelegten Erfahrungen zunutze macht. Die nach den Angaben von J. K. Wilson (1915) und A. Niethammer (1926) aussichtsvoll erscheinenden Versuche mit Chlorkalk und anderen Hypochloriten, sowie mit anderen Beizmitteln werden fortgesetzt, so daß man hoffen kann, bald über eine größere Anzahl von geeigneten Substanzen zu verfügen. Das ist wichtig, denn ein Universalrezept zu geben, erscheint mir nahezu aussichtslos.

IV. Bedeutung der Samendesinfektion

Nun kann man natürlich fragen, welchen Wert solche Versuche haben. Ich denke, er kann in zwei Richtungen liegen: Erstens kann

man hoffen, daß durch sie die prinzipiellen Grundlagen der Samenbeizung in der oben gekennzeichneten Weise einer Klärung nähergeführt werden, denn nur durch Vergleich verschiedener Substanzen und ihrer Wirkung bei verschiedenen Arten wird man allmählich herausfinden, worauf es dabei ankommt. Es wäre gut, wenn auch die verschiedenen, von den chemischen Fabriken hergestellten Verbindungen, aus denen dann nur die besten als Beizmittel in den Handel kamen, in dieser Weise geprüft werden könnten, wobei gleichzeitig mehr als das bei den von mir verwendeten, chemisch sehr verschiedenen Substanzen geschehen konnte, auf ihre physikalischen Eigenschaften geachtet werden sollte. Dies wäre die Bedeutung der vergleichenden Versuche über Saatgutdesinfektion für die Erforschung der Theorie der Beizung.

Zweitens aber hat der Pflanzenphysiologe ein Interesse an den Fortschritten der einschlägigen Methode. Denn der Besitz keimfreien Samenmaterials macht ihn von mannigfachen Fehlerquellen frei und ermöglicht ihm Versuche, die sonst überhaupt nicht anzustellen wären. Obgleich nun das Streben, ein geeignetes Verfahren zu finden, keineswegs etwas Neues ist, so sind doch die einschlägigen Versuche früher größtenteils mehr nebenher, als methodische Vorbereitung für Experimente, die ganz andere Ziele hatten, ausgeführt worden. Wenn auch dadurch im einzelnen öfters ganz gute Erfolge erzielt worden sind, so blieb doch die allgemeine Anwendbarkeit der von verschiedenen Forschern empfohlenen Methoden ungewiß, und man konnte auch nicht ersehen, warum gerade ein bestimmtes Verfahren gewählt worden war. Bei näherer Erforschung der Verhältnisse zeigte es sich sehr bald, daß sie viel zu verwickelt sind, als daß sie durch wenige und deshalb ungenügend variierte Experimente hätten aufgeklärt werden können. Dazu gehörte ein umfangreiches Versuchsmaterial, von dem auch jetzt erst ein kleiner Teil vorliegt.

Immerhin haben wir jetzt die Möglichkeit, eine ganze Anzahl von Samen und einsamigen Schließfrüchten keimfrei zu machen, und zwar mit einer bedeutend einfacheren Methodik, als sie vielfach früher für nötig erachtet wurde. Eine solche Vereinfachung erweitert aber die Anwendungsmöglichkeit keimfrei gemachten Samenmaterials erheblich, sowohl nach der quantitativen Seite als auch im Hinblick auf Versuchszwecke, bei denen man bisher die Anwesenheit von Mikroorganismen in Kauf nehmen mußte.

Über die verschiedenen Anwendungsmöglichkeiten möchte ich im

folgenden eine Übersicht geben. Da es sich um ein Gebiet handelt, welches großenteils erst erschlossen werden muß, so wird es sich dabei allerdings zum Teil nur um Zukunftspläne handeln können, von denen erst gezeigt werden muß, ob und inwieweit sie sich verwirklichen lassen.

Betrachten wir zunächst die Versuche mit Samen selbst, so kommt hauptsächlich der nach beginnender Keimung einsetzende rege Stoffwechsel in Frage. Schon die erste, gesteigerte Kohlensäureabscheidung, die nach der Quellung auftritt, läßt sich bisher nicht sicher auf die wiedererwachende Lebenstätigkeit der Gewebe des Samens zurückführen, weil wir nicht wissen, welcher Teil der Kohlensäure von Mikroorganismen herrührt, welche an der Außenseite der Samen sitzen. Dasselbe gilt in wohl noch höherem Maße für die späteren Stadien und besonders auch für Versuche mit zerriebenem Material, weil hier reichlich organische Nährstoffe für Mikroorganismen vorhanden sind. Freilich ist die Verwendung aseptisch gemachter Samen auch nicht ganz einfach, weil sie voraussetzt, daß auch die Gefäße und etwa hinzutretende Luft entkeimt werden. Außerdem muß man noch besonders deshalb kritisch vorgehen, weil es zunächst nicht klar ist, inwieweit die vorangegangene Behandlung der Samen oder adsorbierte Reste des Desinfektionsmittels einen Einfluß auf den Stoffwechsel haben. Von Nabokich (1901) ist schon eine solche Nachwirkung angegeben worden; doch ist die Wiedergabe seiner Versuche nicht ausreichend, um ein Urteil zu gewinnen. Auch ist zu bedenken, daß mit der Desinfektion eine Behandlung mit Flüssigkeit einhergeht, die selbst nicht ohne Einfluß auf die Atmung sein kann. Ohne genaue Kontrollversuche läßt sich auf diesem Gebiete nicht weiterkommen. Doch bezeugen die mannigfach variierten Versuche von Esenbeck und Suessenguth (1925), daß verschiedene, zur Entkeimung verwendete Chemikalien einen deutlichen Einfluß auf die Enzymtätigkeit ausüben, so daß jedenfalls große Vorsicht bei dem Vergleich entkeimter und nicht entkeimter Samen in bezug auf ihren Stoffwechsel am Platze ist. Das kann uns aber nicht hindern, die Forderung aufzustellen, man möge in Zukunft Versuche über aerobe und anaerobe Atmung keimender Samen nach Möglichkeit auch unter Ausschluß der Mikroorganismen anstellen.

Derselben Forderung hat man sich schon nachzukommen bemüht in solchen Versuchen, welche der künstlichen Ernährung von unreifen oder reifen Embryonen aus Samen galten. Doch sind die Erfahrungen bisher noch wenig umfangreich (Esenbeck und Suessenguth,

1925), weil die Methode der Desinfektion noch nicht fertig vorlag und das Herumtasten einen großen Teil der Arbeitskraft aufzehren mußte. Die Anfänge sind aber vielversprechend. Hat man sich in diesen Versuchen bemüht, die vom Nährgewebe getrennten Embryonen aufzuziehen, indem man ihnen gewissermaßen einen Nährgewebeersatz bot, um die Stoffwechselbeziehungen zwischen den von der Mutterpflanze mitgegebenen Reservestoffspeichern und der Anlage der zukünftigen jungen Pflanze aufzudecken, so sind andere, großenteils ältere Untersuchungen der Aufgabe gewidmet worden, umgekehrt die Entleerung der Nährgewebe künstlich zu bewirken. Während die ersten Bearbeiter dieses Themas (Hansteen, 1894, und Puriewitsch, 1896) noch ganz unzureichende Mittel, und zwar hauptsächlich Kupfersulfat, verwendeten, um die störenden fremden Keime fernzuhalten und eine Prüfung auf Sterilität nicht für erforderlich gehalten zu haben scheinen, geht die nach langer Pause erfolgte Wiederaufnahme dieser Arbeitsrichtung mit einer Verbesserung der Methodik einher (Bessenich, 1924, Dahm, 1924, Grünfeld, 1926). Diese Arbeiten haben aber nur einen kleinen Teil der Probleme geklärt, welche den physiologischen Zustand der ausschließlich der Reservestoffspeicherung dienenden Gewebe betreffen. Wir wissen noch immer wenig darüber, auf Grund welcher physikalisch-chemischen Prozesse die Auswanderung der Reservestoffe und die Übernahme durch den Embryo vonstatten geht. Außerdem ist fast ausschließlich mit solchen Speichergeweben gearbeitet worden, welche als Endosperme nicht in unmittelbarem Gewebezusammenhange mit dem Embryo stehen. Wenn diese auch aus theoretischen und praktischen Gründen — man denke an die Malzbereitung — im Vordergrunde des Interesses stehen, so sind doch ähnliche Fragen zum Teil auch bei den Keimblättern zu stellen. Untersuchungen in dieser Richtung unter aseptischen Bedingungen gehören der Zukunft an.

Besser unterrichtet sind wir über die Möglichkeit, ein ernährungsphysiologisch unselbständiges Organ des etwas vorgeschrittenen Keimlings, nämlich die junge Wurzel, durch künstliche Zufuhr von Nahrungsstoffen zur Entwicklung zu bringen. Kotte (1922) und Robbins (1922) haben gezeigt, daß es tatsächlich möglich ist, abgeschnittene Wurzelspitzen unter Ausschaltung von Mikroorganismen auf geeigneten Nährboden zu längere Zeit andauerndem Wachstum zu bringen. Der letztere hat auch mit Sproßspitzen einige erfolgreiche Versuche angestellt, die wichtige Aussichten eröffnen; doch erfolgte die

Wahl der Nahrungsstoffe noch ziemlich willkürlich, so daß Schlüsse auf die normale Ernährung dieser Teile im Verbande der intakten jungen Pflanze vorläufig nur mit Vorsicht gezogen werden können. Auch hier wird die erleichterte und verbesserte Technik der Samendesinfektion hoffentlich bald zu umfangreicheren Untersuchungen anregen, die von großer Bedeutung werden können. Wir wissen z. B. noch nicht, warum die Entwicklung der isolierten Teile immer nach einer gewissen Zeit aufhört. Ob hier Stoffe fehlen, die in der zum Versuch verwendeten Wurzelspitze nur in kleiner Menge vorhanden sind, oder ob Wechselbeziehungen zwischen den Organen, die durch die Abtrennung unterbunden sind, zum normalen Gedeihen erforderlich sind, ist eine überaus wichtige Frage. Es kann natürlich auch sein, daß die gewählte Ernährung nur vorübergehend günstig war, auf die Dauer aber zu Stoffwechselstörungen führte. Die Zahl der anschließenden Fragestellungen ist so groß, daß hier nur einige angedeutet werden konnten.

Durch die aseptische Aufzucht von Pflanzen aus total desinfizierten Samen stehen uns auch die Teile älterer Wurzeln und Sprosse in keimfreiem Zustande zur Verfügung und laden zum Gebrauch für stoffwechselphysiologische Untersuchungen ein. So konnten wir die Stärkebildung in Blättern aus zugeführten organischen Stoffen unter Ausschluß von Mikroorganismen studieren, wodurch die älteren Angaben unter Vermeidung der Zersetzung und der dadurch gegebenen Fehlerquellen nachgeprüft und auf längere Zeit ausgedehnt werden konnten. Die Ergebnisse sind vorläufig noch zu gering an Zahl, weil andere Untersuchungen zu einer Unterbrechung zwangen; doch konnte man schon sehen, daß die Ergebnisse auf diese Weise sehr an Zuverlässigkeit gewinnen.

Sehr interessant denke ich mir auch Versuche, dem Problem der „organbildenden Stoffe" auf eine neue Art beizukommen. Wir wissen, daß bei der Regeneration aus Teilen einer Pflanze, je nach dem Zustand, in dem sich das betreffende regenerierende Stück befunden hat, ein recht verschiedenes Ergebnis zustande kommt. Der älteren Vorstellung von J. Sachs, daß hierbei spezifische, in dem Pflanzenteil vorhandene organbildende Stoffe eine Rolle spielen, steht die andere, hauptsächlich von Klebs und Goebel vertretene Auffassung gegenüber, daß es nicht besondere Substanzen seien, sondern die Mischung respektive das quantitative Verhältnis der gewöhnlichen Nährstoffe, welches für das Schicksal des Regenerates

maßgebend sei. Die Frage kann trotz zahlreicher experimental-morphologischer Arbeiten nicht als entschieden gelten und wird es auch auf diese Weise nie werden. Durch die künstliche Ernährung keimfreier, isolierter Pflanzenteile, z. B. Blätter oder Stecklinge, haben wir es innerhalb gewisser Grenzen in der Hand, das Verhältnis der Stoffe innerhalb der Gewebe zu verschieben. Vielleicht wird man auf diese Weise das Problem lösen können. Wenn ich mir erlauben darf, den vermutlichen Ausgang der Experimente vorauszusagen, so muß ich gestehen, daß ich das negative Ergebnis für wahrscheinlicher halte: Die Verschiebung der Reaktionsweise dürfte nicht gelingen. Das darf uns aber nicht abhalten, solche Versuche in Angriff zu nehmen. Geeignet wären nach meinen Erfahrungen wahrscheinlich auch Stecklinge oder Blätter von Moosen, die sich leicht absolut rein kultivieren lassen und bei Regeneration, je nach dem Vorleben, deutlich verschieden reagieren. Die Lösung des Problems kann auch für die Gärtnerei von Bedeutung werden, weil man je nach Bedarf bald blühende oder erst Blattsprosse bildende Pflanzen aus Stecklingen oder nach Propfung bekommen kann.

Schließlich gibt uns die Technik der Aufzucht von Pflanzen unter Ausschluß der Mikroorganismen auch die Möglichkeit an die Hand, Versuche über die Aufnahme organischer und zersetzlicher anorganischer Stoffe durch die Wurzeln anzustellen. In letzterer Richtung haben vor allem Klein und Kisser (1925) gearbeitet, wobei es darauf ankam, diejenigen Bakterien auszuschließen, welche Umsetzungen der Stickstoffverbindungen bewirken können, also denitrifizierende und nitrifizierende Arten. Über die Wirkung organischer Stoffe, welche den Wurzeln geboten werden, gibt es eine größere, hauptsächlich französische, aber auch russische Literatur, zum Teil schon älterer Herkunft. Die Methodik war aber recht schwerfällig und unsicher. Auch sind meist keine genügenden Proben auf wirkliche Sterilität der Nährlösung angestellt worden. Zum Teil begnügte man sich mit wenigen Einzelversuchen, zum Teil fehlen überzeugende Kontrollen.

Es galt daher zunächst, die Methodik zu verbessern und zu vereinfachen, weil erst dadurch die Möglichkeit geboten wird, größere Kulturserien anzulegen. Hat man nun das Samenmaterial von Mikroorganismen befreit, so muß es zur Keimung gebracht werden. Man kann das entweder in einem besonderen Keimbett oder im Kulturmedium vornehmen. Sicherer und bequemer ist der zweite Weg, den

ich daher vorgezogen habe. Ferner kann man entweder nur das Wurzelsystem oder die ganze Pflanze unter aseptischen Bedingungen aufziehen. Bei größeren Gewächsen ist das letztere schwer durchführbar, weil dazu geschlossene Gefäße von großem Umfang nötig sind. Man hat sich daher meist mit Sterilität des Wurzelsystems begnügt (Literatur bei Klein und Kisser, 1924). Für manche, teilweise oben angeführte Zwecke ist es aber erwünscht, auch die oberirdischen Teile vor der Infektion durch Luftkeime zu bewahren. Ich habe mich daher bemüht, solche Pflanzenarten zu verwenden, die auch im ausgewachsenen Zustande wenig Raum einnehmen, so daß sie in einfachen Erlenmeyerkolben kultiviert werden können. Für das weitere machte ich mir die Erfahrungen zunutze, die ich bei der Reinkultur von Algen und Moosen gewonnen hatte. Man hat dabei den weiteren großen Vorteil, daß man auf engem Raume unter leicht übersehbaren Bedingungen größere Kulturreihen unterbringen kann.

Als Nährboden benutzte ich vor allem mit Vorteil den für die Kultur von Mikroorganismen allgemein verwendeten und auch für Moose geeigneten Agar, der nach Belieben mit Nährstoffen versetzt werden kann. Daneben wurde feuchtes Filtrierpapier und Sand verwendet. Die Hauptschwierigkeit ist die Erhaltung der Feuchtigkeit des Nährbodens während der Wochen bis Monate betragenden Kulturdauer. In dieser Hinsicht sind meine Methoden noch verbesserungsbedürftig. Andererseits herrscht in den geschlossenen, mit Wattestöpsel versehenen Gefäßen eine große Luftfeuchtigkeit, die die bei offenen Kulturen vorhandene stark übertrifft. Nur die Erfahrung konnte lehren, inwiefern diese Mängel der Technik das Ergebnis beeinträchtigen.

Als Versuchsobjekte habe ich vor allem Hungerblümchen (Draba verna) benutzt, daneben Vogelmiere (Stellaria media), Lobelien (Lobelia erinus) und Hornkraut (Cerastium brachypetalum). Die Keimung machte leider bei der Vogelmiere, einem aus verschiedenen Gründen besonders geeigneten Versuchsobjekt, unerwartete Schwierigkeiten. Bei den anderen erfolgte sie auf dem Agar nach Totaldesinfektion mit Uspulun oder Brom ohne Schwierigkeit. Nicht so leicht vonstatten ging das Eindringen der sich entwickelnden Wurzeln in den Nährboden. Wird dieser mit einem geringen Agargehalt hergestellt, so zerfließt er leicht; im anderen Falle können die Wurzeln nur auf der Oberfläche kriechen. Da aber die Transpiration gering war, so genügte die Wasserversorgung, um die Entwicklung zu ermöglichen, besonders wenn es sich um Pflanzen

mit dünnen und daher verhältnismäßig leicht eindringenden Wurzeln handelte.

Um bei den Versuchen von der Jahreszeit unabhängiger zu sein, benutzte ich vielfach die von mir früher angegebene verbesserte sogenannte künstliche Sonne, eine helle Glühbirne, welche zwecks Verminderung der Wärmestrahlung von einem zwischen zwei Glasglocken befindlichen Wassermantel umgeben ist. Es gelang auf diese Weise, ein gutes Wachstum der Versuchspflanzen zu erzielen, welche innerhalb der Glaskolben bei künstlichem Licht auch blühten und Samen reiften.

Die Versuche über die Wirkung organischer Nährstoffe im Agar- oder Sandsubstrat stecken noch in den ersten Anfängen; doch konnte eine günstige Wirkung von Zucker, der also offenbar durch die Wurzeln aufgenommen werden kann, sicher beobachtet werden. Ein vollständiger Ersatz der Assimilation ist aber auf diese Weise bei meinen bisherigen Versuchspflanzen nicht zu erzielen. Bei Ausschluß des Lichtes war kein merklicher Unterschied zwischen den mit Zucker versorgten und den mit bloßer Salznährlösung versehenen Pflanzen zu erkennen. Besonderes Interesse erregten die Versuche mit chlorophyllfreien Pflanzen von Stellaria media, von einer gefleckten Rasse, deren Samen ich der Güte von Herrn Geheimrat C o r r e n s verdankte. Die normalerweise nur die Keimblätter entwickelnden und dann aus Mangel an Nahrung zugrunde gehenden Pflänzchen konnten durch Zugabe von Zucker zum Nährboden zur Ausbildung von 4—5 Laubblattpaaren gebracht werden. Dies ist immerhin ein gewisser Erfolg, wenn auch eine vollständige Ersetzung der normalen Ernährung auf Grund der Kohlensäureverarbeitung hier ebensowenig erreicht werden konnte wie bei den Dunkelpflanzen der grünen Stammart. Auch bei der farblosen Form war im Dunkeln kein deutlicher Unterschied zwischen den zuckerfreien und den Zuckerkulturen zu bemerken, und die Überverlängerung, die das charakteristische morphologische Merkmal der im Finstern wachsenden vergeilten Pflanzen ist, trat in beiden Fällen ein. Wenn die Schwierigkeit überwunden werden kann, die in der unsicheren Keimung der Stellariasamen liegt, so sollen diese Versuche fortgesetzt werden, die einen gewissen Aufschluß auch über das Wesen der morphologischen Vergeilung versprechen. Besonders erscheinen Versuche mit farbigem Licht unter gleichzeitiger Zufuhr einer noch zu erprobenden möglichst günstigen organischen Ernährung aussichtsvoll.

Bei diesen Versuchen erwies sich übrigens die Verwendung des Agarnährbodens als besonders günstig, weil auf diese Weise etwa stattfindende Infektion mit Luftkeimen sogleich erkannt werden kann, und weil außerdem nicht nur die Entwicklung der oberirdischen Teile, sondern auch die des Wurzelsystems ohne weiteres beobachtet werden kann. Letztere schien durch die Einwirkung des Lichtes nicht erheblich beeinflußt zu werden.

In einigen Fällen wurde beobachtet, daß eine ungewollte Infektion mit Pilzen einen günstigen Einfluß auf die Entwicklung und die Blühwilligkeit haben kann. Wir wissen noch nicht, ob es sich dabei nur um einfache chemische Veränderungen, wie Veränderung der Reaktion durch Bildung von Säuren aus Zucker, Lieferung von für die Pflanze besser als Zucker verwertbaren Stoffwechselprodukten des Pilzes usw. oder um eine verwickeltere Wechselwirkung der zwei Organismen handelt. Hier könnten ebenfalls weitere Untersuchungen anknüpfen, die nicht nur theoretisches Interesse hätten, weil über die Bedeutung der Mikroorganismenflora im Boden, abgesehen von einigen deutlichen Fällen, wie vor allem den bei der Umsetzung der Stickstoffverbindungen beteiligten Bakterien, noch sehr viel weniger bekannt ist als der außerordentlichen, auf die Bodenbakteriologie verwendeten Mühe entsprechen würde. Das allerdings noch fern liegende Ziel wäre also, bestimmte Bakterien, Pilze und vielleicht auch Algen in „Doppelreinkultur" mit Blütenpflanzen in geeigneten Substraten zusammenzubringen.

Dazu ist aber außer der noch zu verbessernden Technik der aseptischen Kultur der Pflanzen vor allem noch ein großes Hindernis zu überwinden. Solche Versuche würden erst dann ihren vollen Gewinn bringen, wenn sie nicht mit künstlichen Substraten durchgeführt würden, wie sie Agar, Papier und auch mit Nährlösung getränkter Sand darstellen, sondern mit humushaltiger Erde, die unter normalen Verhältnissen allein in Betracht kommt. Leider haben wir aber bisher kein Verfahren, welches eine Abtötung der Bodenorganismen ohne erhebliche und sehr störende Veränderungen des Bodens in chemischer und physikalischer Hinsicht erlaubte. Mit Serilisation durch Hitze kommt man jedenfalls nicht zum Ziele, wie das schon lange bekannt ist und auch in meinen Versuchen zutage trat. Die Entwicklung der Pflanzen war sogar in einer durch Erhitzen im Autoklav sterilisierten Lauberde, in der noch nicht einmal alle Bakteriensporen abgetötet gewesen sein dürften, äußerst kümmerlich. Man wird sich bis

auf weiteres doch mit künstlichen Substraten behelfen müssen, welche man aber durch Mischung einer natürlichen Bodenprobe ähnlicher zu machen suchen wird. Man wird dabei nicht nur auf den Einfluß der Bodenorganismen auf das Gedeihen der Blütenpflanzen zu achten haben, sondern umgekehrt auch auf die Rolle, welche die von lebenden und absterbenden Wurzeln gelieferten Substanzen in der Versorgung der Mikroorganismen spielen.

In ähnlicher Richtung liegen die Versuche, welche zum Zweck hatten, die normale Symbiose zwischen höheren Pflanzen und Pilzen aufzuklären. Hier wären vor allem die erfolgreichen Arbeiten von Burgeff (1909) zu nennen, der Orchideensamen und die dazugehörigen Mykorrhizenpilze auf Zuckeragar zur Entwicklung brachte, sowie die schönen Ergebnisse von Melin (1925) an Pilzwurzeln von Waldbäumen. Auch für diese Untersuchungen war die keimfreie Gewinnung des Samenmaterials ein Erfordernis, und es ist zu hoffen, daß jede Verbesserung der Samendesinfektion auch der Symbioseforschung einen neuen Anstoß geben wird.

Das gleiche gilt für die Untersuchungen über die Ernährung und überhaupt die Physiologie der Parasiten. Es ist zwar Molliard schon 1908 und Tubeuf 1912 gelungen, Cuscuta und Viscum in geschlossenen Gefäßen, ausgehend von desinfizierten Samen, zu kultivieren; aber so verdienstlich und bedeutungsvoll ihre Versuche sind, so können sie doch erst als ein Anfang auf einem schwierigen und hervorragend interessanten Gebiete gelten, dessen Erforschung uns einen ganz neuen Einblick in gewisse Probleme der Pflanzenernährung zu geben verspricht. Über die Rolle der Wurzelpilze bei den chlorophyllfreien Ganzsaprophyten, wie Monotropa, Neottia u. a., wissen wir noch so gut wie gar nichts. Aber hier handelt es sich offenbar um sehr speziell angepaßte Formen, zu deren Züchtung es nicht genügen wird, Reinkulturen der üblichen Art anzustellen.

Mit diesen Andeutungen haben wir uns allerdings schon in wissenschaftliche Gefilde begeben, zu denen bisher noch keine Brücken aus uns vertrauten Gegenden hinüberführen. Wir hoffen aber, daß man mit uns Geduld haben und nicht gleich die Lösung aller aufgezeigten Probleme auf Grund von vorläufig noch kleinen technischen Verbesserungen erwarten wird. Schon diejenigen Wege, die klar und deutlich vor uns liegen, werden uns noch viel Zeit und Mühe kosten.

Literaturangaben

Fr. Bessenich, Untersuchungen über die Endospermentleerung von Zea Mais. Jahrbücher für wissenschaftliche Botanik 63, 232, 1924.
H. Burgeff, Die Wurzelpilze der Orchideen. Jena 1909.
P. Dahm, Untersuchungen über die Abhängigkeit der Endospermentleerung bei Zea Mais. Jahrbücher für wissenschaftliche Botanik 63, 273, 1924.
E. Esenbeck und K. Suessenguth, Über die aseptische Kultur pflanzlicher Embryonen, zugleich ein Beitrag zum Nachweis der Enzymausscheidung. Archiv für experimentelle Zellforschung 1, 547, 1925.
M. Geiger, Studien zum Gaswechsel einer extremen Schattenpflanze (Aspidistra) und zur Methodik der Gaswechselversuche. Jahrbücher für wissenschaftliche Botanik 67, 635, 1928.
— Beitrag zur Kenntnis der Physiologie keimender Samen. Jahrbücher für wissenschaftliche Botanik 69, 2, 331, 1928.
O. Grünfeld, Über die Entleerung und Wiederauffüllung isolierter Getreideendosperme, insbesondere von Mais, unter aseptischen Bedingungen. Beihefte zum Botanischen Zentralblatt 42, 355 und 43, 167, 1926.
B. Hansteen, Über die Ursache der Entleerung der Reservestoffe aus Samen. Flora 79, 419, 1894.
G. Klein und J. Kisser, Die sterile Kultur der höheren Pflanzen. Botanische Abhandlungen, herausgegeben von K. Goebel, Heft 2, Jena 1924.
— Die Nitratassimilation der höheren Pflanze. Sitzungsberichte der Akademie der Wissenschaften, mathematisch-naturwissenschaftliche Kl. Wien, 134, 101, 1925.
W. Kotte, Wurzelmeristem in Gewebekultur. Vorläufige Mitteilung. Berichte der Deutschen Botanischen Gesellschaft 40, 269, 1922.
— Kulturversuche mit isolierten Wurzelspitzen. Beiträge zur allgemeinen Botanik 2, 413, 1922.
E. Melin, Untersuchungen über die Bedeutung der Baummikorrhiza, eine ökologisch-physiologische Studie. Jena 1925.
M. Molliard, Cultures saprophytiques de Cuscuta monogyna. C. R. Academie des Sciences Paris 147, 685, 1908.
J. Nabokich, Wie die Fähigkeit der höheren Pflanze zum anaeroben Wachstum zu beweisen und zu demonstrieren ist. Berichte der Deutschen Botanischen Gesellschaft 19, 223, 1901.
A. Niethammer, Ein Beitrag zur Samendesinfektion. Biochemische Zeitschrift 172, 173, 1926.
E. G. Pringsheim, Vergleichende Untersuchungen über Saatgutdesinfektion. Angewandte Botanik 10, 208, 1928.
K. Puriewitsch, Physiologische Untersuchungen über die Entleerung der Reservestoffbehälter. Jahrbücher für wissenschaftliche Botanik 31, 1, 1896.

W. J. Robbins, Cultivation of excised root tips and stem tips under sterile conditions. Botanical Gazette 73, 376, 1922.

H. Schröder, Die Widerstandsfähigkeit des Weizen- und Gerstenkornes gegen Gifte und ihre Bedeutung für die Sterilisation. Zentralblatt für Bakteriologie, Abteilung II, 28, 492, 1910.

— Über die selektiv permeable Hülle des Weizenkornes. Flora 2, 186, 1911.

— Über die Wirkung von Silbernitrat auf die Keimfähigkeit von Getreidekörnern. Biologisches Zentralblatt 35, 8, 1915.

K. von Tubeuf, Versuche mit Mistelreinkulturen in Erlenmeyerkölbchen. Naturwissenschaftliche Zeitschrift für Forst- und Landwirtschaft 10, 138, 1912.

J. K. Wilson, Calcium hypochlorite as a seed sterilizer. American Journal of Botany 2, 420, 1915.